



Orientações sobre os testes
de **sarampo** e
rubéola realizados
na rede de laboratórios
da Região das Américas

OPAS



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS
Américas

Orientações sobre os testes de **sarampo** e **rubéola** realizados na rede de laboratórios da Região das Américas

Brasília, D.F., 2020

OPAS



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS
Américas

Orientações sobre os testes de sarampo e rubéola realizados na rede de laboratórios da Região das Américas

© Organização Pan-Americana da Saúde, 2020

ISBN: 978-92-75-71997-8 (PDF)

Alguns direitos reservados. Esta obra está disponível nos termos da licença Atribuição-NãoComercial-Compartilhada 3.0 OIG de Creative Commons; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/deed.pt>.



De acordo com os termos desta licença, esta obra pode ser copiada, redistribuída e adaptada para fins não comerciais, desde que a nova obra seja publicada com a mesma licença Creative Commons, ou equivalente, e com a referência bibliográfica adequada, como indicado abaixo. Em nenhuma circunstância deve-se dar a entender que a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) endossa uma determinada organização, produto ou serviço. O uso do logotipo da OPAS não é autorizado.

Adaptação. No caso de adaptação desta obra, o seguinte termo de isenção de responsabilidade deve ser adicionado à referência bibliográfica sugerida: “Esta é uma adaptação de uma obra original da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). As perspectivas e opiniões expressadas na adaptação são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es) da adaptação e não têm o endosso da OPAS”.

Tradução. No caso de tradução desta obra, o seguinte termo de isenção de responsabilidade deve ser adicionado à referência bibliográfica sugerida: “Esta tradução não foi elaborada pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). A OPAS não é responsável pelo conteúdo ou rigor desta tradução”.

Referência bibliográfica sugerida. Orientações sobre os testes de sarampo e rubéola realizados na rede de laboratórios da Região das Américas. Brasília, D.F.: Organização Pan-Americana da Saúde; 2020. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Dados da catalogação na fonte (Cataloging in Publication - CIP). Os dados da CIP estão disponíveis em <http://iris.paho.org>.

Vendas, direitos e licenças. Para adquirir publicações da OPAS, escrever a sales@paho.org. Para solicitar uso comercial e indagar sobre direitos e licenças, acesse <http://www.paho.org/permissions>.

Materiais de terceiros. Para a utilização de materiais nesta obra atribuídos a terceiros, como tabelas, figuras ou imagens, cabe ao usuário a responsabilidade de determinar a necessidade de autorização e de obtê-la devidamente do titular dos direitos autorais. O risco de indenização decorrente do uso irregular de qualquer material ou componente da autoria de terceiros recai exclusivamente sobre o usuário.

Termo geral de isenção de responsabilidade. As denominações utilizadas e a maneira de apresentar o material nesta publicação não manifestam nenhuma opinião por parte da OPAS com respeito ao estatuto jurídico de qualquer país, território, cidade ou *área*, ou de suas autoridades, nem tampouco à demarcação de suas fronteiras ou limites. As linhas pontilhadas e tracejadas nos mapas representam as fronteiras aproximadas para as quais pode ainda não haver acordo definitivo.

A menção a determinadas empresas ou a produtos de certos fabricantes não implica que sejam endossados ou recomendados pela OPAS em detrimento de outros de natureza semelhante não mencionados. Salvo erros ou omissões, os nomes de produtos patenteados são redigidos com a inicial maiúscula.

A OPAS adotou todas as precauções razoáveis para verificar as informações constantes desta publicação. No entanto, o material publicado está sendo distribuído sem nenhum tipo de garantia, seja expressa ou implícita. A responsabilidade pela interpretação e uso do material recai sobre o leitor. Em nenhum caso a OPAS será responsável por prejuízos decorrentes de sua utilização.

CONTEÚDO

Prefácio.....	v
Agradecimentos	vi
Abreviaturas e siglas	vii
Resumo	ix
1. Introdução.....	1
2. Obtenção e transporte de amostras biológicas.....	5
2.1 Soro	6
2.2 Amostras respiratórias	6
2.3 Urina	6
2.4 Embalagem e transporte seguro de amostras.....	8
3. Métodos disponíveis na rede regional de laboratórios de sarampo e rubéola.....	9
3.1 Métodos sorológicos	10
3.1.1 Determinação dos anticorpos IgM e IgG	10
3.1.2 Soroconversão de IgG	10
3.1.3 Avidéz de IgG	11
3.2 Métodos virológicos.....	11
3.2.1 Isolamento do vírus e RT-qPCR	12
3.2.2 Análise do sequenciamento.....	12
4. Confirmação de infecção recente e busca ativa laboratorial	15
4.1 Critérios para a confirmação laboratorial de uma infecção recente de sarampo ou rubéola.....	15
4.2 Busca ativa laboratorial	15
4.2.1 Busca ativa laboratorial em áreas ou municípios que não notificam casos suspeitos.....	16
4.2.2 Busca ativa laboratorial no início do surto.....	16
4.2.3 Busca ativa laboratorial para encerramento do surto.....	16
5. Testes laboratoriais em casos esporádicos	19
5.1 Confirmação laboratorial dos casos esporádicos.....	19
5.2 Casos esporádicos nos quais podem ser necessários testes adicionais.....	20
6. Algoritmo para a realização dos testes	23
6.1 Algoritmo de rotina para a análise de casos suspeitos de sarampo ou rubéola.....	23
6.2 Algoritmo complementar para análise sorológica de amostras com um resultado inicial IgM positivo ou indeterminado	24

7. Função do laboratório de sarampo e rubéola durante os surtos	27
7.1 Como lidar com um caso esporádico importado	27
7.2 Como lidar com uma cadeia de transmissão.....	28
7.3 Recomendações adicionais para as cadeias de transmissão do sarampo ou da rubéola.....	29
8. Garantia da qualidade	31
8.1 Participação no programa mundial de ensaios de proficiência dos testes de IgM.....	32
8.2 Controle de qualidade indireto dos testes de IgM.....	32
8.3 Participação no programa mundial de ensaios de proficiência dos testes moleculares	33
8.4 Controle de qualidade de análises moleculares: RT-qPCR e sequenciamento	33
8.5 Documentação de casos esporádicos com IgM positivo	34
8.6 Notificação dos dados	34
9. Referências bibliográficas	35
10. Anexos	37
Anexo 1.A. Formulário para o envio de amostras do LN ao LRR ou ao LME, para o controle de qualidade dos testes de sarampo	38
Anexo 1.B. Formulário para o envio de amostras do LN ao LRR ou ao LME, para o controle de qualidade dos testes de rubéola	39
Anexo 2. Formulário para o envio de amostras do LN ao LRR ou ao LME para a confirmação laboratorial de sarampo e rubéola	40
Anexo 3. Registro laboratorial dos casos esporádicos de sarampo ou rubéola com um resultado IgM positivo ou indeterminado.....	41
Anexo 4. Influência da prevalência no valor preditivo positivo do teste.....	43
Anexo 5. Resumo das situações de casos esporádicos de sarampo ou rubéola em que pode ser necessário realizar testes adicionais	44
Anexo 6. Algoritmo de rotina para a análise de casos suspeitos de sarampo ou rubéola	46
Anexo 7. Algoritmo complementar para análise sorológica de amostras com um resultado inicial IgM positivo ou indeterminado.....	47
Anexo 8. Número total de amostras de soro recebidas, processadas e IgM positivas de acordo com sua origem e data de obtenção da amostra*	48
Anexo 9. Número total de amostras respiratórias e de urina processadas e RT-qPCR positivas de acordo com sua origem e data de obtenção da amostra*	49
Anexo 10. Genótipos identificados e quantidade de sequências detectadas de acordo com a origem e a data de obtenção*	50

PREFÁCIO

Os países da Região das Américas adotaram a meta de interromper a transmissão endêmica do sarampo e da rubéola até os anos 2000 e 2010, respectivamente. Graças à implementação bem-sucedida das estratégias de vacinação contra o sarampo e a rubéola, os países interromperam a transmissão endêmica do sarampo em 2002 e da rubéola em 2009. Após um processo de verificação, a Região das Américas foi declarada livre da rubéola endêmica e da síndrome da rubéola congênita (SRC) em 2015 e livre do sarampo em 2016.

Para manter a eliminação do sarampo e da rubéola na Região, é essencial que a vigilância laboratorial siga as recomendações estabelecidas dentro da Rede Regional de Laboratórios de Sarampo e Rubéola (RRLSR) da OPAS e garanta que todos os laboratórios nacionais que participam da Rede Mundial de Laboratórios de Sarampo e Rubéola (RMLSR) da Organização Mundial da Saúde (OMS) e da RRLSR forneçam resultados precisos e confiáveis.

Como parte do apoio laboratorial e da experiência técnica fornecidos pela OPAS na fase posterior à eliminação (uma vez declarada a eliminação), foram formuladas e divulgadas continuamente orientações técnicas sobre as estratégias de realização de testes, correlação e interpretação de resultados, treinamentos e transferência de tecnologia, a fim de melhorar a capacidade dos laboratórios nacionais para fornecer resultados que permitam uma classificação precisa dos casos e otimizar a resposta do sistema de vigilância dos países para detectar vírus importados e fornecer, a partir do laboratório, orientações para o estudo de cadeias de transmissão.

O objetivo deste documento é fornecer informações sobre as amostras clínicas necessárias e os testes disponíveis nos laboratórios nacionais para apoiar a vigilância laboratorial do sarampo e da rubéola, mantendo a garantia da qualidade estabelecida pela RMLSR da OMS. Além disso, fornecer orientação técnica para padronizar os testes laboratoriais para o sarampo e a rubéola nos casos esporádicos com resultado inicial IgM positivo, onde foram desenvolvidos algoritmos para a análise, bem como no estudo das cadeias de transmissão, para fornecer as evidências exigidas pelo sistema e otimizar o uso dos recursos. Este documento é essencialmente uma ferramenta para ajudar a melhorar a investigação laboratorial e a classificação dos casos de sarampo e rubéola na Região das Américas, um requisito fundamental para manter a eliminação desses dois vírus na Região.



Cuauhtémoc Ruiz Matus
Chefe da Unidade de Imunização Integral
Departamento da Família, Promoção da Saúde e Ciclo de Vida
OPAS/OMS

AGRADECIMENTOS

Este texto foi elaborado pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), com base na experiência dos Estados Membros no processo de eliminação e durante a verificação da eliminação do sarampo e da rubéola na Região das Américas. A OPAS agradece a todas as pessoas que participaram das reuniões regionais, reuniões de especialistas e reuniões presenciais nas quais este conteúdo foi gerado e que contribuíram para as revisões técnicas que levaram à elaboração e edição final deste documento de orientação. As seguintes pessoas fizeram contribuições significativas: William Bellini, Ana María Bispo, Rodrigo Fasce, Joseph Icenogle, Jennifer Rota, Paul Rota, Marilda M. Siqueira e Gloria Rey-Benito. Por último, agradecemos a Andrea Patricia Villalobos, consultora da FPL/IM (Família, Gênero e Ciclo de Vida/Imunização Integral da Família), por sua exaustiva revisão e seus comentários.

Coordenação

Gloria Janneth Rey-Benito, FPL/IM, OPAS (Washington, D.C.)

Cuauhtémoc Ruiz-Matus, FPL/IM, OPAS (Washington, D.C.)

ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	ácido desoxirribonucleico
RNA	ácido ribonucleico
CDC	Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos
CRL	coordenador regional de laboratórios (OPAS)
ELISA	ensaio de imunoabsorção enzimática (na sigla em inglês)
GTA	Grupo Técnico Assessor sobre Doenças Imunopreveníveis
SF	swab faríngeo
HHV-6	herpesvírus humano 6
SN	swab nasal
SNF	swab nasofaríngeo
IgG	imunoglobulina de classe G (tipo de anticorpo)
IgM	imunoglobulina de classe M (tipo de anticorpo)
IFA	teste de imunofluorescência
IH	inibição da hemaglutinação (teste)
LME	laboratório mundial especializado
LN	laboratório nacional
LRR	laboratório regional de referência
MTV	meio de transporte viral
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PBS	solução salina tamponada com fosfato (na sigla em inglês)
EC	ensaio de competência
PRNT	teste de neutralização por redução de placas (na sigla em inglês)
RMLSR	Rede Mundial de Laboratórios de Sarampo e Rubéola (OMS)
RNase	ribonuclease (na sigla em inglês)
RRLSR	Rede Regional de Laboratórios de Sarampo e Rubéola (OPAS)
RT-qPCR	Transcrição reversa associada à reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (na sigla em inglês)
SR	dupla viral ou vacina contra sarampo e rubéola
SRC	síndrome da rubéola congênita
SRP	tríplice viral ou vacina contra sarampo, rubéola e caxumba
VIDRL	Laboratório Victoriano de Referência em Doenças Infecciosas (na sigla em inglês)



**Rede de Laboratórios
de Sarampo e Rubéola
Região das Américas, 1995–2018**

- 21 Laboratórios nacionais
- 2 Laboratórios regionais de referência
- 1 Laboratório mundial especializado

110 Laboratórios Subnacionais

- 21 na Argentina
- 27 no Brasil
- 26 no Canadá
- 5 na Colômbia
- 31 no México

RESUMO

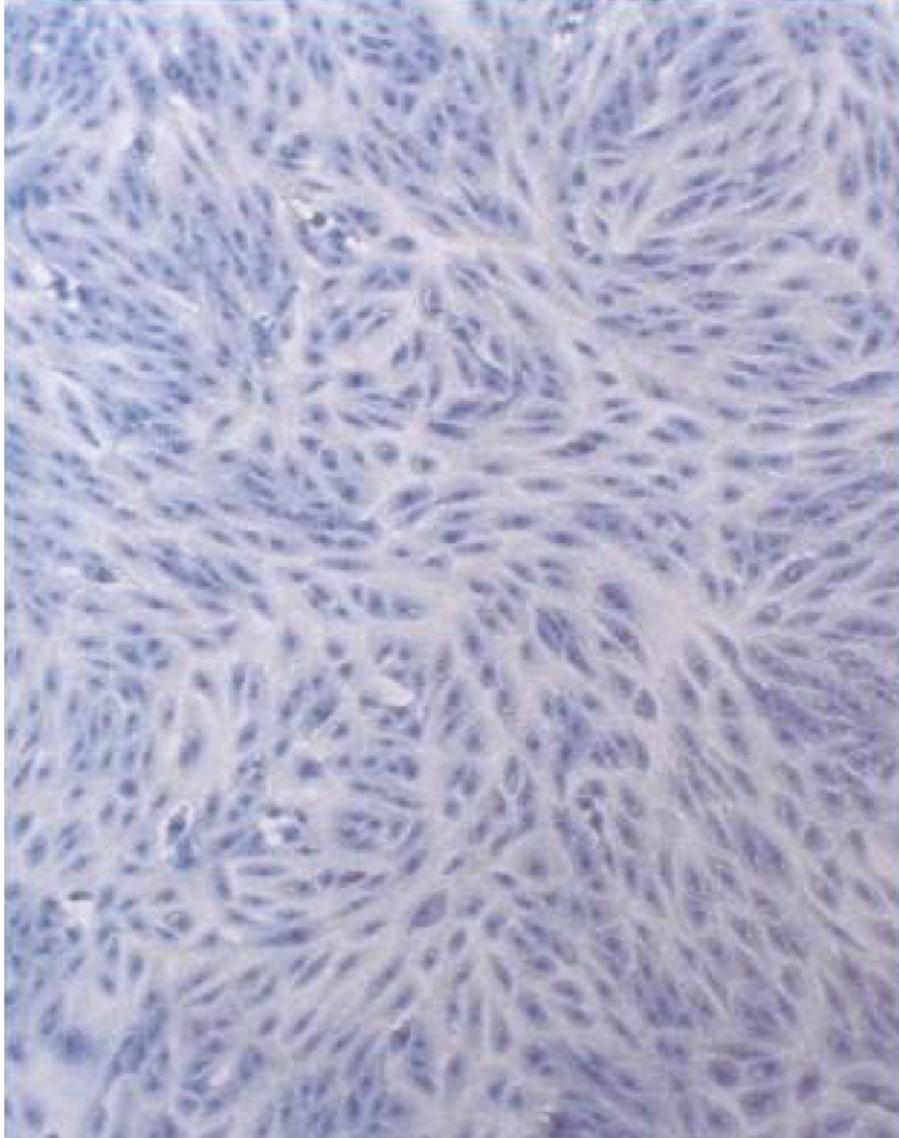
O objetivo deste documento é orientar e padronizar a análise de amostras de casos suspeitos de sarampo e rubéola na rede de laboratórios da Região das Américas. Nele são apresentados alguns dados pertinentes sobre a eliminação do sarampo e da rubéola na Região, a obtenção de amostras biológicas necessárias para realizar as análises laboratoriais e os métodos ou testes disponíveis na rede regional de laboratórios. Além disso, no documento são descritas as principais atividades relacionadas à garantia da qualidade nos laboratórios que integram a Rede Mundial de Laboratórios de Sarampo e Rubéola, bem como a notificação de casos detectados e a notificação dos resultados ao sistema de vigilância.

Este documento servirá como ferramenta para aumentar a capacidade dos profissionais de saúde para analisar casos, melhorar a correlação dos resultados laboratoriais com os dados clínicos e epidemiológicos e otimizar o uso dos testes laboratoriais para o benefício da comunidade, do sistema de vigilância e dos tomadores de decisão. Com essa finalidade, são apresentados o algoritmo de rotina e o algoritmo complementar para analisar as amostras de casos suspeitos com resultado inicial IgM positivo ou indeterminado. Foram incluídas uma seção para destacar a função do laboratório durante os surtos de sarampo ou rubéola e outra sobre casos esporádicos importados ou no estudo de cadeias de transmissão.

Além disso, o documento apresenta uma proposta de formulários que devem ser anexados ao enviar amostras de casos esporádicos com resultado de IgM positivo ou indeterminado, para que sejam incluídas informações básicas que facilitem a interpretação de tais resultados e a classificação final dos casos.

Foram publicados e continuarão sendo publicados muitos documentos técnicos e científicos sobre as análises laboratoriais para diagnóstico de sarampo e rubéola, confirmação de infecção aguda, confirmação de reinfecção, detecção de falha vacinal primária ou secundária, detecção de imunidade, entre outros aspectos. Algumas dessas publicações foram consideradas e citadas neste documento com o objetivo de facilitar a interpretação dos resultados, otimizar o uso de testes laboratoriais e classificar adequadamente cada caso. No entanto, se o leitor tiver interesse em se aprofundar no estudo de qualquer um dos temas, recomendamos consultar a literatura científica atualizada e disponível.

A leitura e aplicação dessas orientações na vigilância de rotina permitirá melhorar as competências dos profissionais de saúde no tocante à investigação laboratorial dos casos suspeitos de sarampo e rubéola em um contexto de baixa incidência da doença, como um componente essencial para manter os países da Região livres dessas doenças.



© Gloria Rey-Benito.

Monocamada de células Vero coradas com azul de metileno/fenol.

1. Introdução

Em 1994, os países da Região das Américas estabeleceram a meta de interromper a transmissão do sarampo endêmico até o ano 2000 (1). Para conseguir a eliminação, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) desenvolveu estratégias que incluem atividades de vacinação destinadas a conseguir uma alta imunidade na população, juntamente com uma vigilância sensível para detectar casos suspeitos, com confirmação laboratorial da infecção aguda do vírus do sarampo e isolamento viral ou detecção de ácido ribonucleico (RNA) para permitir a identificação molecular da origem do vírus (2). Para isso, a OPAS e o CDC de Atlanta criaram a Rede Regional de Laboratórios de Sarampo e Rubéola (RRLSR).

Na XVIII Reunião do Grupo Técnico Assessor (GTA) sobre Doenças Imunopreveníveis da Organização Pan-Americana da Saúde, realizada em San José (Costa Rica), em agosto de 2009 (3), a OPAS apresentou o *Plano de ação para a documentação e verificação da eliminação do sarampo, da rubéola e da síndrome da rubéola congênita na Região das Américas* (4). Um dos componentes essenciais do plano é manter a vigilância laboratorial do sarampo e da rubéola e gerar evidências sobre a epidemiologia molecular desses vírus. Os dados genéticos obtidos através das pesquisas realizadas por essa rede forneceram importantes evidências que documentam: 1) a interrupção da transmissão endêmica do sarampo e da rubéola, bem como 2) a manutenção do estado de eliminação na Região.

A RRLSR se incorporou à Rede Mundial de Laboratórios de Sarampo e Rubéola (RMLSR), criada pela OMS em 2000, e introduziu métodos de diagnóstico e reagentes padrão, bem como uma garantia de qualidade integral. Isso inclui o uso de ensaios de proficiência (realizados com uma avaliação da qualidade do diagnóstico laboratorial por meio da análise de painéis de soro), testes confirmatórios, controle de qualidade interno, processo de acreditação de laboratórios, monitoramento da entrega adequada de resultados e notificação semanal de indicadores de desempenho ao sistema nacional de vigilância do sarampo e da rubéola (doravante denominado “sistema de vigilância”), bem como a participação da OPAS como responsável pela coordenação do sistema de vigilância regional.

A vigilância virológica realizada pela RRLSR é usada para observar as mudanças que ocorrem nos genótipos e nas sequências dos vírus ao longo do tempo em um determinado país e em toda a Região. As informações são analisadas em conjunto com dados epidemiológicos de rotina para ajudar a documentar a interrupção da transmissão do sarampo endêmico na Região e fornecer dados sobre sua epidemiologia molecular, uma ferramenta crucial para documentar a ausência de um genótipo endêmico ou as importações de genótipos de outras regiões.

Entende-se por eliminação a ausência de transmissão de sarampo ou rubéola endêmica em uma determinada área geográfica (por exemplo, um país ou uma região) por um período de ≥ 12 meses, na presença de um sistema de vigilância que funcione adequadamente (5). No contexto de eliminação, um caso isolado de sarampo com confirmação laboratorial é considerado um surto de sarampo confirmado (6, 7) e exige uma resposta rápida.

O Comitê Internacional de Especialistas declarou a eliminação da rubéola e da SRC em abril de 2015, e do sarampo em 27 de setembro de 2016, tornando a Região das Américas a primeira região do mundo a alcançar esses objetivos. No entanto, como a circulação do sarampo persiste em várias regiões do mundo, os

países da Região das Américas continuam correndo o risco de que ocorram importações desses vírus. Essas orientações para os testes laboratoriais realizados nas amostras provenientes de casos esporádicos de sarampo e rubéola foram elaboradas para ajudar a: 1) proteger os avanços realizados na Região na eliminação da rubéola e do sarampo e 2) garantir que todos os laboratórios regionais e nacionais participantes forneçam resultados precisos e de boa qualidade.

A elaboração e divulgação dessas orientações foram propostas inicialmente por um grupo de especialistas durante reunião na sede da OPAS, em Washington, DC, que ocorreu em 27 de agosto de 2008. O conteúdo apresentado a seguir foi examinado e atualizado com base na experiência dos Estados Membros da OPAS no processo de verificação da eliminação do sarampo e da rubéola na Região. Os responsáveis pelo sistema de vigilância nos países devem fazer tudo o que for possível para seguir essas orientações, reconhecendo que em algumas situações pode não haver informações suficientes para ter total certeza sobre a classificação final dos casos e que este documento é uma ferramenta para manter uma boa investigação laboratorial, facilitar a classificação final dos casos e apoiar a sustentabilidade da eliminação, permitindo que a Região se mantenha livre do sarampo e da rubéola.

SARA

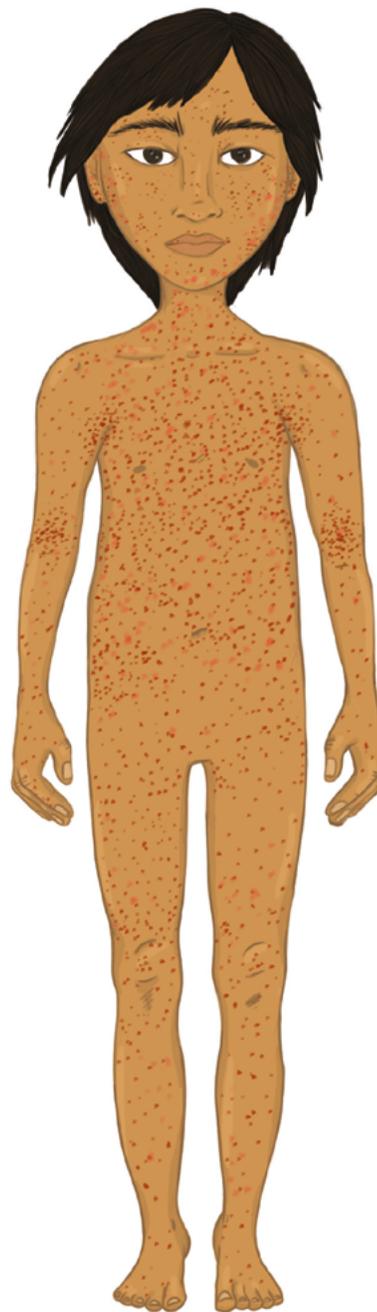


Sara, 3 dias após o aparecimento de exantema por sarampo

Apresentou febre alta, conjuntivite, tosse e coriza, dois dias depois exantema maculopapular generalizado atrás das orelhas e na face, espalhando-se progressivamente para o pescoço, tórax, costas, extremidades superiores, abdômen e, por último, as extremidades inferiores.

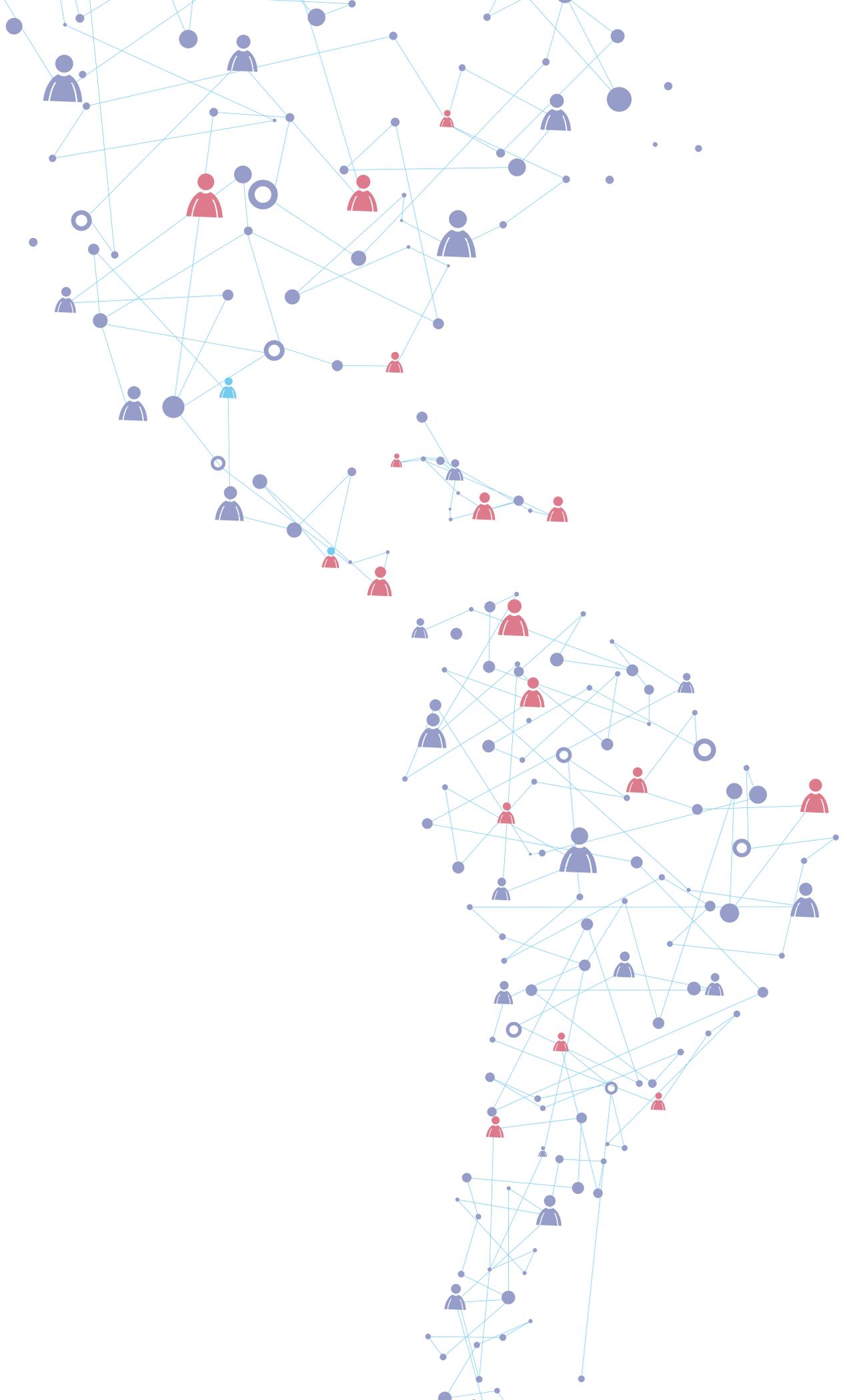
O exantema passou de vermelho a marrom escuro, era descamativo e não pruriginoso.

RUBÉN



Rubén, 3 dias após o aparecimento de exantema por rubéola

Apresentou febre, linfadenopatias e exantema macular generalizado atrás das orelhas, que se espalhou rapidamente para todo o corpo, predominando no tronco e próximo às dobras. O exantema tinha cor avermelhada, bordas bem definidas e não era pruriginoso.



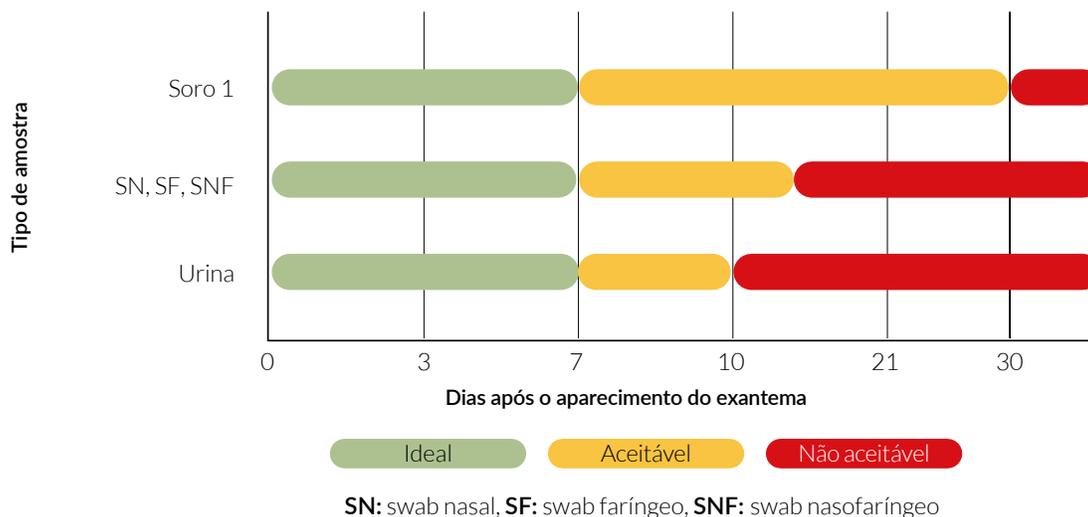
2. Obtenção e transporte de amostras biológicas

Considerando a similaridade do sarampo e da rubéola em termos de apresentação clínica, investigação epidemiológica e diagnóstico laboratorial, desde 2003, a Região realiza uma vigilância totalmente integrada do sarampo e da rubéola, analisando as amostras de soro dos casos suspeitos simultaneamente para detectar anticorpos IgM específicos para cada um desses vírus (6).

Em todos os casos de suspeita de sarampo ou rubéola no primeiro contato com o paciente, devem ser obtidas uma amostra de soro e, no mínimo, uma amostra para isolamento viral nos primeiros três dias de sintomas ou no primeiro contato. Considerando que os resultados sorológicos às vezes podem ser inconclusivos, o uso de uma amostra adequada para a detecção do vírus pode melhorar a classificação dos casos. Em uma amostra obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema, há maior chance de detectar o vírus. A detecção do vírus também permite uma caracterização genética do vírus do sarampo e da rubéola associado à infecção.

A obtenção de amostras respiratórias por *swab* é o método preferido para a detecção viral. O *swab* pode ser faríngeo, nasal ou nasofaríngeo, em uma única amostra ou em amostras combinadas. Dependendo da situação e da disponibilidade de dispositivos, também podem ser obtidas amostras de urina ou fluido oral. A obtenção de amostras respiratórias e de urina aumenta a probabilidade de detecção do vírus em casos isolados relacionados com um histórico de viagem internacional recente ou quando há um elevado grau de suspeita. Uma vez obtidas as amostras, deve-se enviá-las o mais rápido possível ao laboratório, em condições adequadas.

Na obtenção de amostras clínicas, alguns pesquisadores denominam a data de aparecimento do exantema como “dia zero”, enquanto outros denominam essa data como “dia um”. Para maior uniformidade, neste documento recomendamos denominar a data do aparecimento do exantema como “dia zero”.

Figura 1. Tipo de amostra recomendado conforme os dias decorridos desde o aparecimento do exantema

2.1 Soro

Para os testes sorológicos, a amostra de sangue é retirada por flebotomia, preferencialmente em tubo seco com gel separador. Depois que o sangue coagula, é centrifugado para separar o soro. O soro é transferido assepticamente para um frasco estéril com tampa de rosca. O soro deve ser mantido refrigerado até o momento da análise ou deve ser enviado em embalagens com gelo seco. *Nunca congele um tubo contendo sangue total*, pois pode ocorrer hemólise.

A amostra de soro é utilizada nos testes sorológicos para a determinação de anticorpos IgM e IgG específicos. Na vigilância do sarampo e da rubéola, recomenda-se a obtenção da amostra de soro no primeiro contato do caso com a instituição de saúde, no prazo máximo de 30 dias a partir do aparecimento do exantema (8).

A vigilância de rotina para sarampo e rubéola se baseia na determinação de IgM em uma única amostra de soro, preferencialmente obtida durante a fase aguda da doença (primeiros 7 dias a partir do início do exantema).

Em alguns casos, pode ser necessária uma segunda amostra de soro, que deve ser obtida durante a fase de convalescença da doença, preferencialmente em 14 a 21 dias (em um intervalo de 10 a 30 dias) após a obtenção da primeira amostra de soro (9), para permitir a medição de um aumento significativo no título de IgG e confirmar os resultados iniciais de IgM. O intervalo

de tempo ideal entre a obtenção da amostra aguda e a obtenção da amostra convalescente (conjuntamente denominadas “soros pareados”) é de cerca de 2 a 3 semanas.

2.2 Amostras respiratórias

Para os testes virológicos, podem ser obtidas amostras das vias aéreas por swab nasal (SN), swab faríngeo (SF) ou swab nasofaríngeo (SNF). É importante obter uma boa quantidade de células epiteliais (esfregando ou girando o swab sobre o epitélio) para que o vírus possa ser detectado. Deve-se utilizar swabs de poliéster, rayon ou náilon. O swab não deve secar e deve ser colocado em um tubo contendo meio de transporte viral (MTV) ou solução salina tamponada com fosfato (PBS, na sigla em inglês) estéril. A amostra deve ser mantida refrigerada (2 °C a 8 °C) até o momento do envio e durante o transporte. No laboratório, a amostra pode ser congelada a -70 °C. O tempo ideal para a obtenção das amostras das vias aéreas é de até 7 dias a partir do aparecimento do exantema, mas podem ser obtidas em até 14 dias a partir do aparecimento do exantema (9).

2.3 Urina

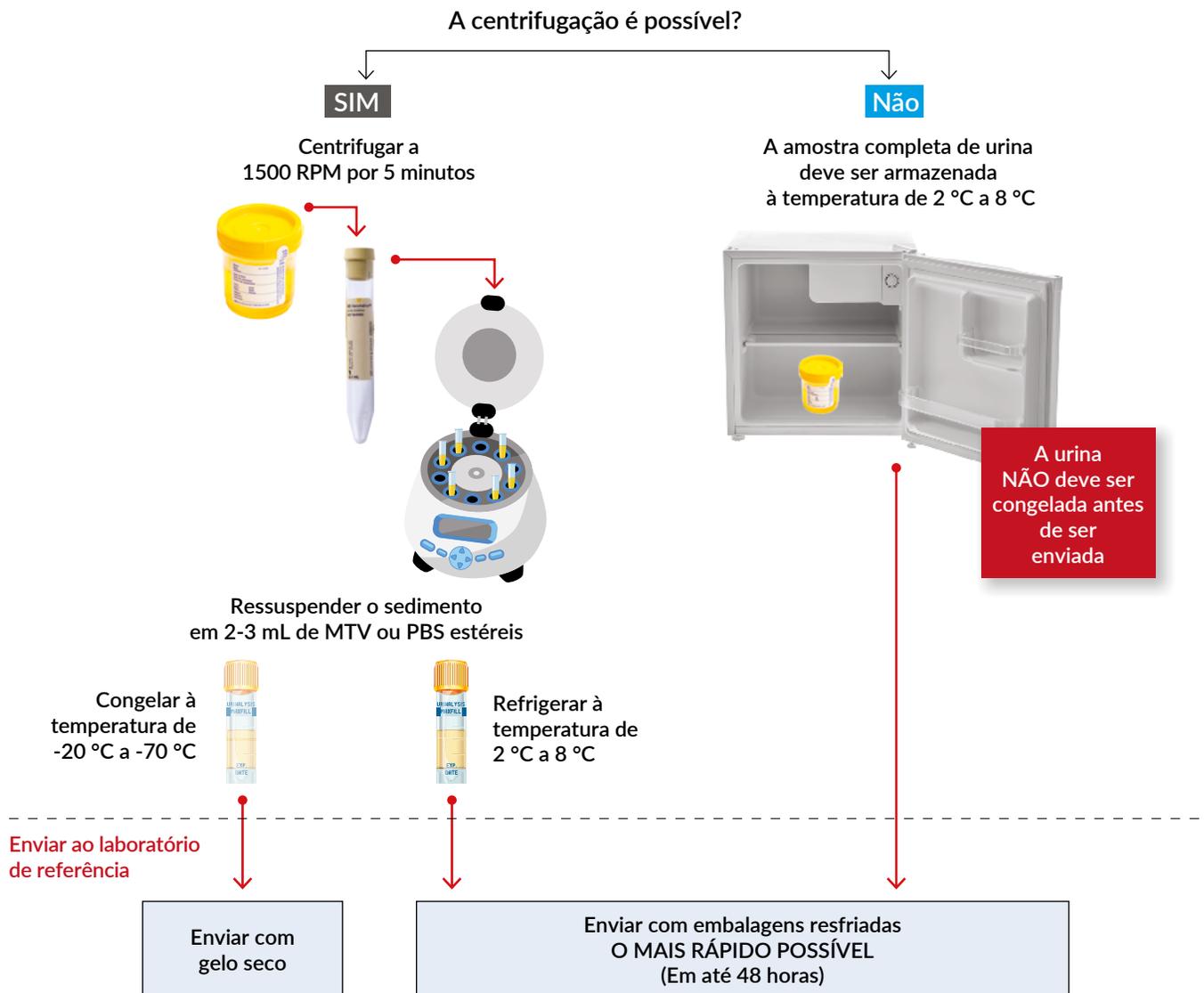
As amostras de urina podem ser coletadas em um recipiente adequado de plástico e com boca larga. Deve-se centrifugar a urina e ressuspender o sedimento em 2-3 ml de MTV ou PBS estéreis. A amostra de urina ressuspensa em MTV deve ser congelada a -70 °C. Se não

houver uma centrífuga disponível, a amostra de urina deve ser refrigerada a uma temperatura de 2 °C a 8 °C e enviada com pacotes refrigerados (“embalagens resfriadas”), em até 48 horas, a um laboratório onde possa ser feito o isolamento viral ou detecção de RNA por meio de reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa quantitativa em tempo real (RT-qPCR, na sigla em inglês). O intervalo de tempo recomendado para a obtenção das amostras de urina é de até 7 dias a partir do aparecimento do exantema, mas podem ser

obtidas até 10 dias após o aparecimento do exantema (Figura 2).

Informações adicionais e protocolos para a obtenção, envio, processamento e conservação destas e de outras amostras podem ser consultados no manual de laboratório da OMS (9) e nos seguintes documentos [em inglês] nas páginas *web* da OMS e dos CDCs: http://www.who.int/ihr/elibrary/manual_diagn_lab_mea_rub_en.pdf e <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt22-lab-support.pdf>.

Figura 2. Pré-tratamento e conservação de amostras de urina para isolamento viral ou detecção de RNA



2.4 Embalagem e transporte seguro de amostras

O transporte seguro de amostras deve garantir o cumprimento das regulamentações nacionais e internacionais vigentes e, especificamente, as recomendações de embalagem tripla (Figura 3), documentação e medidas de biossegurança pertinentes.

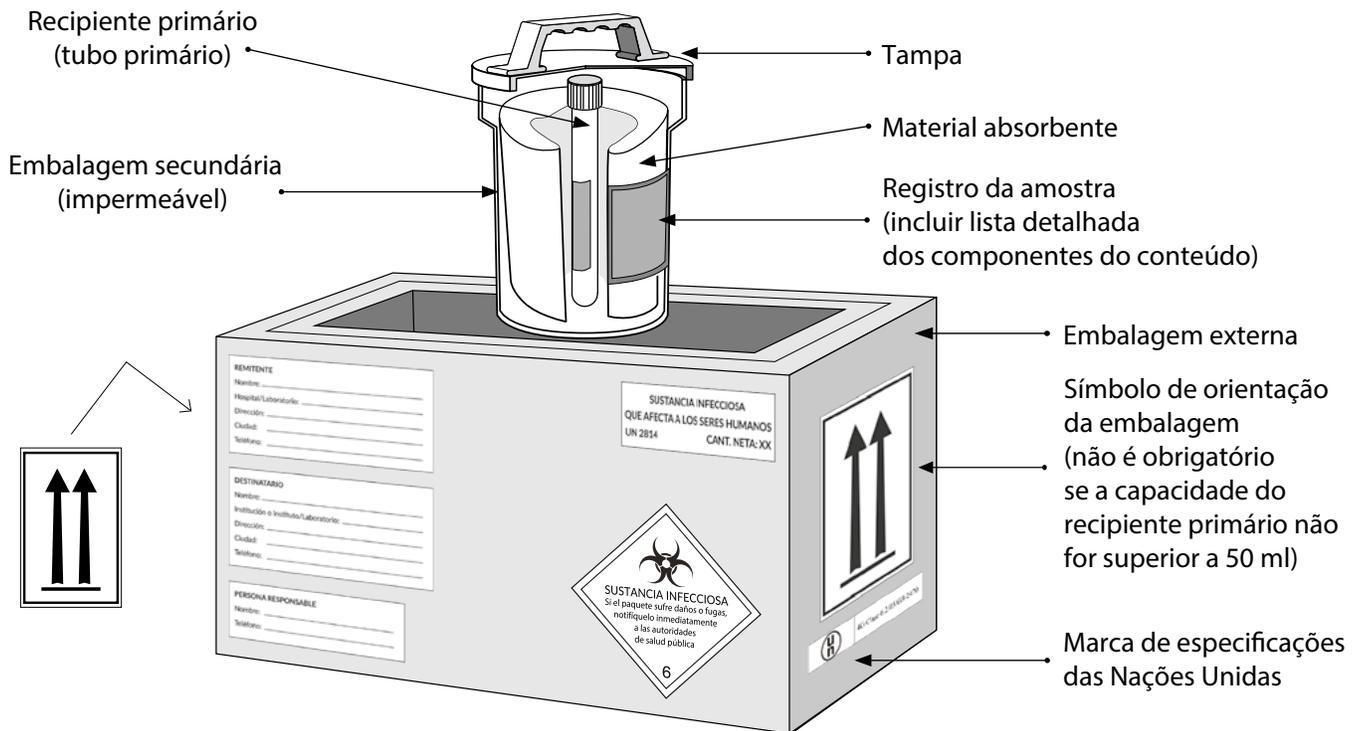
O transporte de amostras biológicas deve cumprir as recomendações do *Guia sobre regulamentação relativa ao transporte de substâncias infecciosas vigente (28)*, anexando a documentação exigida. Os usuários da regulamentação de mercadorias perigosas da Associação Internacional de Transportes Aéreos (IATA) são

responsáveis por fazer o acompanhamento das modificações, atualizações e correções em vigor. O responsável pelo envio internacional deve ter um certificado de remetente vigente.

O remetente, o destinatário e a empresa de transporte devem estabelecer previamente uma coordenação adequada para garantir que o material seja transportado de forma segura, nas embalagens adequadas e que chegue ao seu destino a tempo e em boas condições.

Caso as amostras selecionadas precisem ser enviadas aos CDC, os laboratórios devem informá-lo ao coordenador regional de laboratórios da OPAS (CRL) para obter a autorização antes do início do processo de envio.

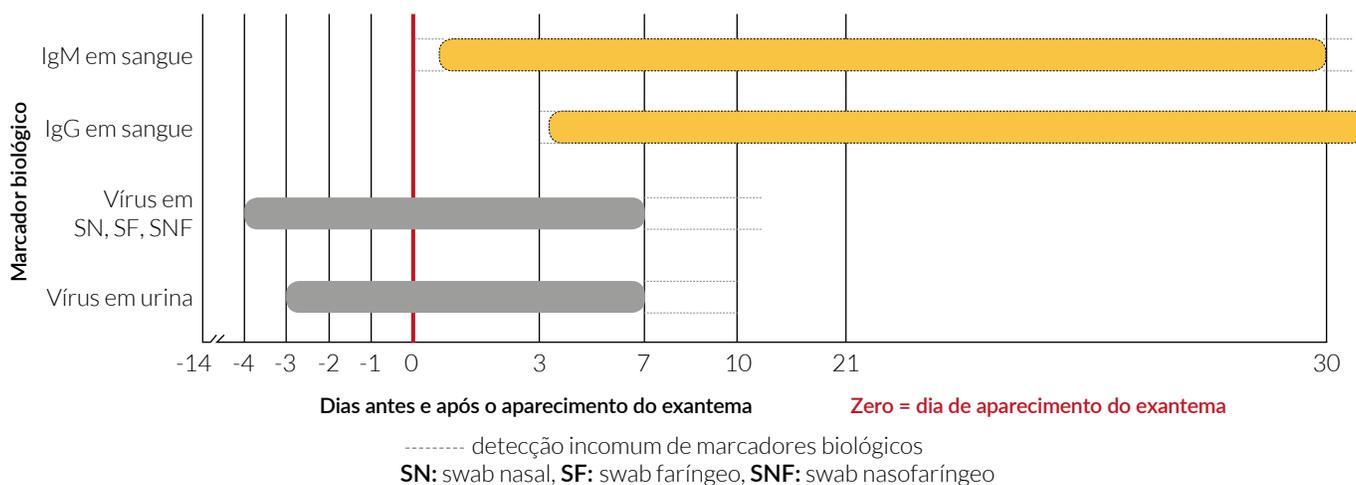
Figura 3. Esquema de embalagem tripla para substâncias infecciosas de categoria A



Fonte: adaptado da IATA, Montreal, Canadá. Exemplo de sistema de embalagem tripla e rotulagem para substâncias infecciosas.v

3. Métodos disponíveis na rede regional de laboratórios de sarampo e rubéola

Nesta seção, são descritos os testes laboratoriais disponíveis para confirmar a infecção aguda pelo vírus do sarampo ou da rubéola (11). Com exceção dos testes ELISA para IgM e IgG, outros testes adicionais, como avidéz de IgG, podem não estar disponíveis em todos os laboratórios nacionais (LNs). Considerando que, em geral, poucas amostras requerem testes adicionais (e dadas as limitações de recursos existentes), talvez seja mais eficiente para os LNs enviar as amostras selecionadas a um laboratório de referência regional (LRR) para a realização de testes adicionais. Os LNs devem entrar em contato com o coordenador regional de laboratórios (CRL) e com o ponto focal de imunização da OPAS para coordenar o envio da amostra ao LRR ou ao laboratório mundial especializado (LME). O uso correto das análises requer correlação clínica com alguns marcadores biológicos da infecção pelo vírus do sarampo ou da rubéola (Figura 4).

Figura 4. Alguns marcadores biológicos da infecção pelo vírus do sarampo ou da rubéola

3.1 Métodos sorológicos

Todas as amostras de soro serão processadas de forma rotineira para a determinação do IgM contra sarampo e rubéola. A interpretação dos resultados deve seguir os critérios de validação recomendados pelo fabricante do teste. Para facilitar o acompanhamento e as orientações técnicas neste documento, o termo “indeterminado” inclui quaisquer resultados indeterminados ou ambíguos.

Os testes serão repetidos imediatamente se não cumprirem quaisquer dos critérios de validação do ensaio. Apenas os resultados dos testes validados serão notificados ao sistema de vigilância. Qualquer soro com resultado IgM positivo ou indeterminado deve ser reprocessado para garantir a reprodutibilidade do resultado.

Em pessoas suscetíveis expostas ao vírus do sarampo ou da rubéola (seja do tipo selvagem ou uma cepa vacinal), o teste para detectar a resposta de IgM se baseará no tempo de aparecimento do exantema. Os anticorpos podem ser detectados por aproximadamente um mês, no caso do sarampo, e dois meses, no caso da rubéola. A produção de IgG começa após a produção de IgM, cerca de 5 a 10 dias após o aparecimento do exantema, persistindo ao longo de toda a vida da pessoa que foi exposta (12).

O diagnóstico sorológico de uma infecção aguda pode se basear na detecção de: 1) anticorpos IgM específicos em uma única amostra de soro ou 2) um aumento significativo do título de anticorpos IgG em duas amostras de soro, da fase aguda e da fase de convalescença, ou seja, em “soros pareados” (13).

3.1.1 Determinação dos anticorpos IgM e IgG

Existem vários métodos para a determinação de anticorpos IgM e IgG, tais como ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA), teste de inibição da hemaglutinação (IH), teste de imunofluorescência (IFA), teste de fixação do complemento e teste de neutralização por redução de placas (PRNT). Porém, o teste ELISA é o método recomendado para o sistema de vigilância, devido à sua precisão e sensibilidade, bem como sua aplicabilidade em termos de facilidade para realizar o teste e obtenção de resultados rápidos, precisos e confiáveis.

Todos os LNs usam testes ELISA comerciais para detectar anticorpos IgM e IgG contra sarampo e rubéola, seguindo o que foi estabelecido nas recomendações da OPAS/OMS com base nas evidências apresentadas (14,15,16). Esses kits de teste tiveram um bom desempenho e mostraram alta sensibilidade e especificidade. No entanto, os profissionais de saúde pública devem ser advertidos de que às vezes podem ocorrer resultados falsos positivos e falsos negativos, podendo ser necessários testes adicionais. Quando há a suspeita de resultado falso negativo, em um caso altamente suspeito, pode ser obtida uma nova amostra de soro entre os dias 4 e 30 após o aparecimento do exantema, para a detecção de anticorpos IgM/IgG. A soroconversão de IgM ou IgG permite confirmar o caso.

3.1.2 Soroconversão de IgG

Quando ocorre uma infecção por vírus em uma pessoa que não teve contato prévio, os anticorpos IgG espe-

cíficos para o vírus podem ser detectados alguns dias após os anticorpos IgM. A IgG pode ser detectada de 5 a 7 dias após o aparecimento do exantema e atingir o pico em aproximadamente 2 a 3 semanas após o aparecimento do exantema. Em uma pessoa infectada, os anticorpos persistirão ao longo de toda a vida.

Quando ocorre uma infecção por vírus em uma pessoa previamente vacinada e há a suspeita de possível infecção por sarampo ou rubéola, o soro da fase aguda será IgM negativo e IgG positivo. Neste caso, a obtenção de uma segunda amostra de soro uma a duas semanas depois é útil para: 1) determinar a resposta de IgG em soros pareados (uma amostra da fase aguda e uma amostra da fase de convalescença) e 2) fornecer evidências de qualquer aumento significativo no título de anticorpos IgG específicos.

A IgG específica contra sarampo ou rubéola pode ser detectada com o teste ELISA e existem kits produzidos comercialmente. Um aumento do título de IgG específica pode ser detectado usando um ELISA semiquantitativo ou análises quantitativas, como IH ou PRNT (17). A IH e a PRNT são demoradas e exigem treinamento e recursos adicionais, tornando o teste ELISA o método preferido para uso na RRLSR. O método utilizado variará dependendo do tipo de kit de ELISA utilizado, e a interpretação dos resultados e o uso dos algoritmos quantitativos devem seguir as instruções do fabricante. Alguns autores indicaram que valores elevados do teste ELISA não correspondem diretamente a um aumento do título de anticorpos, porém outros afirmaram que há uma correlação entre o valor obtido no ELISA e os níveis de anticorpos no título determinado no PRNT (17). O CRL da OPAS, o LRR e o LME podem formular orientações sobre o uso dos testes ELISA para medir o título de IgG.

3.1.3 Avidéz de IgG

A “avidéz” é a força da ligação dos anticorpos IgG ao antígeno. A resposta inicial ao primeiro contato do sistema imunológico com um antígeno é a produção de IgM. Em seguida, podem ser detectados anticorpos IgG com baixa avidéz e, após alguns meses, são detectados IgG com alta avidéz. A avidéz de IgG depende da maturação da IgG, que consiste na passagem de fraca para forte da ligação dos anticorpos IgG a um antígeno.

Os testes de avidéz diferenciam a resposta imune primária da secundária. Este tipo de teste é especialmen-

te útil para demonstrar a imunidade prévia em mulheres grávidas, para evitar interpretações inadequadas da IgM e facilitar a possível detecção de falha vacinal primária ou secundária, bem como a classificação final de qualquer caso (18,19). Os testes de avidéz de IgG também podem ser úteis para a documentação dos casos em que a amostra de soro foi obtida mais de 30 dias após o aparecimento do exantema primário, se não for detectada IgM, mas os dados clínicos e epidemiológicos sugerem que se trata de um caso real de sarampo ou rubéola. Em tais situações, um resultado de baixa avidéz pode ajudar a confirmar o caso (20).

Os LRRs podem realizar o teste de avidéz contra sarampo e rubéola e existem alguns testes comerciais para isso (21). Recomenda-se validar o teste antes do uso. Atualmente, a RRLSR envia as amostras ao laboratório especializado mundial dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos para os testes de avidéz. Os testes de avidéz de IgG contra sarampo e rubéola realizados nos CDCs exigiram uma ampla validação e o uso de controles bem caracterizados. Os laboratórios devem informar o CRL para obter autorização antes de iniciar o processo de envio das amostras selecionadas aos CDCs, para que sejam feitos os testes de avidéz.

3.2 Métodos virológicos

A exposição ao vírus (seja do tipo selvagem ou de uma cepa vacinal) não pode ser diferenciada por meio de uma resposta de anticorpos específicos de tipo IgM ou IgG. Em pacientes que foram vacinados recentemente ou nos quais há suspeita de um resultado IgM falso negativo, seria útil coletar uma amostra de SF, SN, SNF ou de urina para a detecção e sequenciamento do RNA do vírus, a fim de estabelecer um diagnóstico preciso de infecção aguda.

Em um contexto de eliminação, é desejável obter informações genéticas sobre os genótipos de vírus circulantes de pelo menos 80% das possíveis cadeias de transmissão (5). Isso pode ser difícil em casos esporádicos, mas devem ser obtidas informações sobre o genótipo de pelo menos 80% dos surtos (4). De acordo com a OPAS, no período de 2010 a 2015, na Região das Américas, foi alcançada a meta de 80% para surtos com dois ou mais casos (notificações dos países à OPAS, dados não publicados).

Os membros da RRLSR que não realizam o isolamento do vírus ou os testes de RT-qPCR devem enviar as amostras clínicas dos casos confirmados ao LRR designado para a detecção e sequenciamento do vírus. O envio de amostras clínicas de casos confirmados deve ser realizado em até 15 dias a partir da detecção, após a obtenção das licenças e autorizações necessárias. Da mesma forma, os LNs que realizam o isolamento do vírus, mas não o sequenciamento, devem enviar a amostra original e os vírus isolados ao LRR designado, para avaliação genética, em até 15 dias após a detecção, depois da obtenção das licenças e autorizações necessárias.

O CRL e o ponto focal de imunização da OPAS no país, conforme o caso, serão notificados, a fim de agilizar as providências necessárias para que as amostras clínicas e os vírus isolados sejam enviados ao LRR em um prazo não superior a 1 mês após a obtenção ou isolamento. Os LNs que fazem os envios devem informar ao CRL, ao LRR e ao ponto focal de imunização da OPAS sobre todas as amostras que enviarem a um LRR ou LME para receber assistência técnica, antes de fazer o envio, utilizando os formulários apresentados nos anexos 1 e 2 ou formulários similares exigidos pelo laboratório de referência.

Se um caso for confirmado por análise sorológica, as amostras para detecção do vírus (SF, SN, SNF ou amostra de urina) devem ser analisadas ou encaminhadas ao LRR para isolamento do vírus ou detecção de RNA, para obter a caracterização genética do vírus.

3.2.1 Isolamento do vírus e RT-qPCR

O isolamento dos vírus de sarampo ou rubéola em uma cultura de células ou a detecção direta do RNA na amostra clínica fornecem evidências úteis de infecção recente quando o resultado da sorologia é inconclusivo.

O isolamento do vírus em uma cultura de células Vero/hSLAM¹ ou a detecção de RNA viral por RT-qPCR em uma amostra podem ser úteis para confirmar uma infecção recente. No entanto, quando houve uma va-

cinação recente contra sarampo, caxumba e rubéola (vacina tríplice viral ou SRP) próximo à data de aparecimento do exantema, é necessário fazer um sequenciamento para diferenciar se é um vírus do tipo selvagem ou uma cepa vacinal. É importante destacar que um resultado negativo na cultura de células ou RT-qPCR não deve ser usado para descartar o caso, uma vez que a detecção do vírus é muito afetada pela qualidade, manuseio e momento de obtenção das amostras (22).

Os LNs que não usam técnicas de isolamento/detecção viral devem ter um plano para enviar as amostras a um dos LRRs. Os LNs que aplicam a RT-qPCR devem ter um plano para enviar os produtos de PCR a um LRR, para análise da sequência. Os CDCs podem fornecer protocolos padronizados para o isolamento de vírus e RT-qPCR. Além disso, os CDCs podem fornecer kits de primer/sonda para a RT-qPCR.

3.2.2 Análise do sequenciamento

A determinação do genótipo é a única forma de diferenciar os efeitos de uma vacinação recente de uma infecção por vírus do tipo selvagem. A análise da sequência permite: 1) a identificação do genótipo em casos esporádicos e 2) o rastreamento das vias de transmissão. Os dados moleculares e epidemiológicos têm sido úteis para as investigações dos surtos por meio da: 1) determinação da origem do vírus e 2) obtenção de evidências da interrupção da transmissão de sarampo e rubéola endêmicos (23,24,25).

De acordo com a recomendação da OMS para a determinação dos genótipos, é necessário estabelecer pelo menos 450 nucleotídeos do gene que codificam 150 aminoácidos da extremidade carboxilica da nucleoproteína (N) do vírus do sarampo e 739 nucleotídeos da região de codificação E1 do vírus da rubéola. Para a denominação das sequências de sarampo e rubéola, recomenda-se seguir as normas internacionais de nomenclatura para os respectivos vírus (26,27).

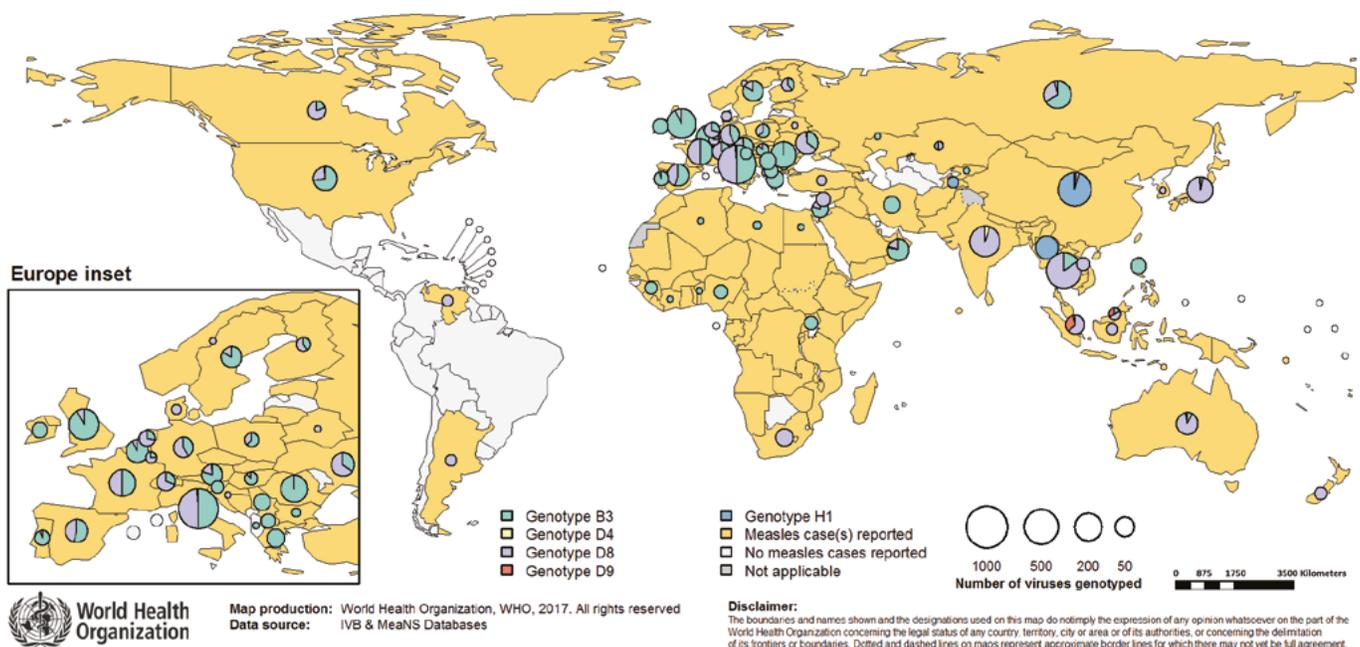
Todos os LRRs e alguns dos LNs podem realizar a análise da sequência do vírus do sarampo e da rubéola para a determinação do genótipo. Lembramos aos LNs que

¹ Células Vero nas quais foi introduzido por transfecção estável um plasmídeo que codifica o gene humano da molécula de ativação da sinalização linfocítica (SLAM, na sigla em inglês); as células foram desenvolvidas pelo Dr. Yusuke Yanagi, da Universidade de Kyushu, Kuyuyoka (Japão). O uso dessas células foi autorizado pela RMLSR da OMS. Em todas as publicações de trabalhos nos quais tenha sido utilizada a linha celular Vero/hSLAM, deve ser feito o reconhecimento à publicação original (Ono et al. J. Virol. 2001; 75: 4399-4401).

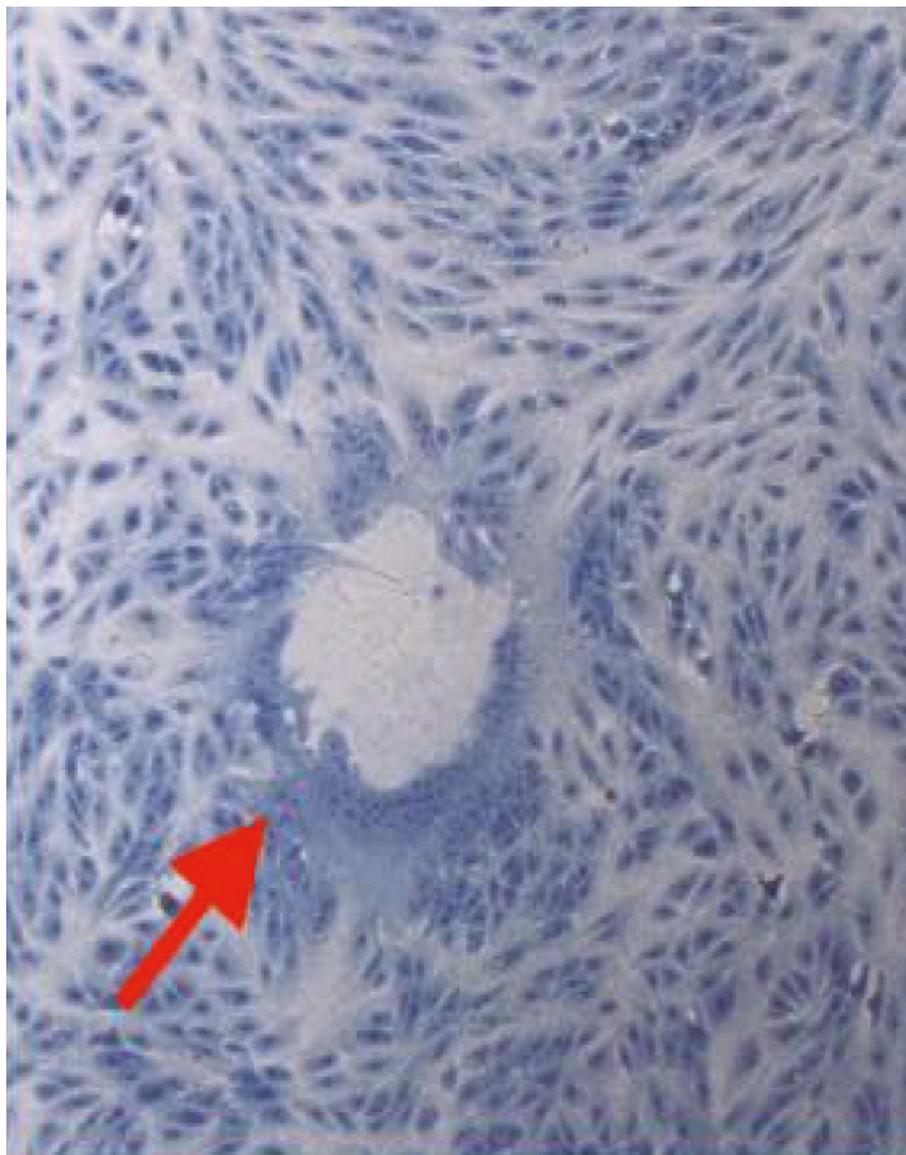
a rápida notificação das informações sobre o genótipo é fundamental para o sucesso do sistema de vigilância. Os LRRs podem aceitar vírus isolados ou produtos de PCR para a análise de sequenciamento. Os LNs que não realizam análise da sequência devem ter um plano para enviar as amostras recebidas a um dos LRRs. Os LNs que realizam análise da sequência devem enviar os vírus isolados e produtos de PCR a um LRR ou LME, para confirmação do genótipo, em até dois meses a partir do recebimento das amostras.

As informações sobre a sequência genética dos vírus de sarampo e rubéola devem ser reportadas aos bancos de dados da OMS, a fim de documentar a distribuição dos genótipos virais em todo o mundo (Figura 5). A RMLSR definiu um prazo de dois meses a partir do recebimento das amostras no laboratório para fazer a adequada notificação das sequências ao sistema.

Figura 5. Distribuição de genótipos de sarampo em 2017



Fonte: banco de dados MeaNS genótipos notificados de janeiro a dezembro de 2017.



© Gloria Rey-Benito.

Células Vero com observação de grandes células multinucleadas, efeito citopático característico da infecção pelo vírus do sarampo.

4. Confirmação de infecção recente e busca ativa laboratorial

4.1 Critérios para a confirmação laboratorial de uma infecção recente de sarampo ou rubéola

Em casos suspeitos de sarampo ou rubéola, o cumprimento de um dos seguintes critérios confirma uma infecção recente:

- resultado de IgM positivo específico para o vírus;
- soroconversão ou aumento significativo dos títulos de IgG em soros pareados (soro de fase aguda e soro de fase de convalescença);
- isolamento do vírus ou detecção de RNA por RT-qPCR;
- detecção de uma sequência de tipo selvagem; ou
- vínculo epidemiológico direto com um caso confirmado por laboratório.

O teste de IgM continua sendo a análise de rotina exigida no sistema de vigilância da OPAS para confirmar a infecção aguda. Embora um resultado IgM positivo confirme uma infecção recente pelo vírus, *devido ao contexto de eliminação na Região, é aconselhável que cada caso confirmado cumpra mais de um dos critérios disponíveis.*

4.2 Busca ativa laboratorial

Recomenda-se a busca ativa laboratorial de casos de sarampo e rubéola em amostras de soro obtidas para a vigilância de dengue ou das outras doenças por arbovírus, pois: 1) foram estabelecidas áreas endêmicas ou a presença de surtos de dengue e outros arbovírus em diferentes países da Região; 2) alguns casos prováveis de doenças por arbovírus podem apresentar febre e exantema; 3) durante as fases prodrômicas ou iniciais da doença, é difícil diferenciar clinicamente qualquer infecção causada por esses vírus; e 4) alguns casos suspeitos de sarampo ou rubéola podem ter sido detectados e notificados como casos de dengue ou outras doenças por arbovírus.

4.2.1 Busca ativa laboratorial em áreas ou municípios que não notificam casos suspeitos

A busca ativa laboratorial tem sido utilizada durante o processo de verificação da eliminação e é recomendável que continue sendo aplicada durante a fase posterior à eliminação, como complemento da vigilância do sarampo e da rubéola em municípios que não notificam casos suspeitos. O objetivo é obter evidências da ausência de transmissão do sarampo ou da rubéola nessas áreas epidemiologicamente silenciosas. Deve-se analisar uma quantidade razoável de amostras de soro para preencher os poços das tiras reagentes das análises realizadas periodicamente no laboratório membro da RRLSR.

Os soros selecionados para os testes de IgM contra sarampo e rubéola devem cumprir TODOS os seguintes critérios:

- a) o caso apresentou febre e exantema;
- b) soro de um provável caso de dengue ou outra doença por arbovírus;
- c) soro com resultado negativo para dengue ou outra doença por arbovírus;
- d) o soro foi obtido 30 dias antes do teste de IgM contra sarampo e rubéola; e
- e) o caso vem de uma “área silenciosa” (sem notificação de casos suspeitos de sarampo e rubéola ao sistema de vigilância).

Qualquer resultado positivo ou indeterminado deve ser imediatamente notificado e deve-se seguir todos os critérios definidos no sistema de vigilância para a investigação dos casos de sarampo e rubéola. O laboratório deve manter um registro dessa atividade e revisar periodicamente os dados consolidados com o epidemiologista responsável pelo sistema de vigilância.

4.2.2 Busca ativa laboratorial no início do surto

A busca ativa laboratorial pode ser considerada uma estratégia de vigilância útil para documentar a presença de casos em áreas onde foi confirmado um caso de sarampo (caso índice) e não há evidências da fonte de

infecção ou de como o vírus foi introduzido naquela comunidade.

Deve-se analisar uma quantidade razoável de amostras obtidas para a vigilância laboratorial de dengue/outras arboviroses ou outra doença exantemática febril (conforme a situação epidemiológica do país e da capacidade de resposta do laboratório) que cumpram TODOS os seguintes critérios:

- a) o caso apresentou febre e exantema;
- b) soro de um provável caso de dengue ou outra arbovirose;
- c) soro com resultado negativo para dengue ou outra doença arbovirose;
- d) amostras obtidas dentro dos 30 dias anteriores à data de início do exantema no caso índice;
- e) amostras obtidas no mesmo município onde o caso índice foi confirmado.

O laboratório deve manter um registro dessa atividade e notificar os dados de forma consolidada ao sistema de vigilância.

Os resultados da busca ativa laboratorial fornecem dados que, juntamente com os critérios epidemiológicos e de vacinação, são úteis para verificar, após um surto, se a circulação do vírus do sarampo ou da rubéola foi interrompida.

4.2.3 Busca ativa laboratorial para encerramento do surto

A busca ativa laboratorial também foi recomendada pela OPAS como um dos critérios exigidos para o encerramento de surtos; o objetivo é mostrar que a transmissão do vírus do sarampo ou da rubéola terminou.

Uma quantidade razoável de amostras obtidas para o diagnóstico de dengue ou outra doença por arbovírus (conforme a situação epidemiológica do país) deve ser processada para a detecção de IgM contra sarampo ou rubéola e deve cumprir TODOS os seguintes critérios:

- a) soro obtido de um caso com febre e exantema;

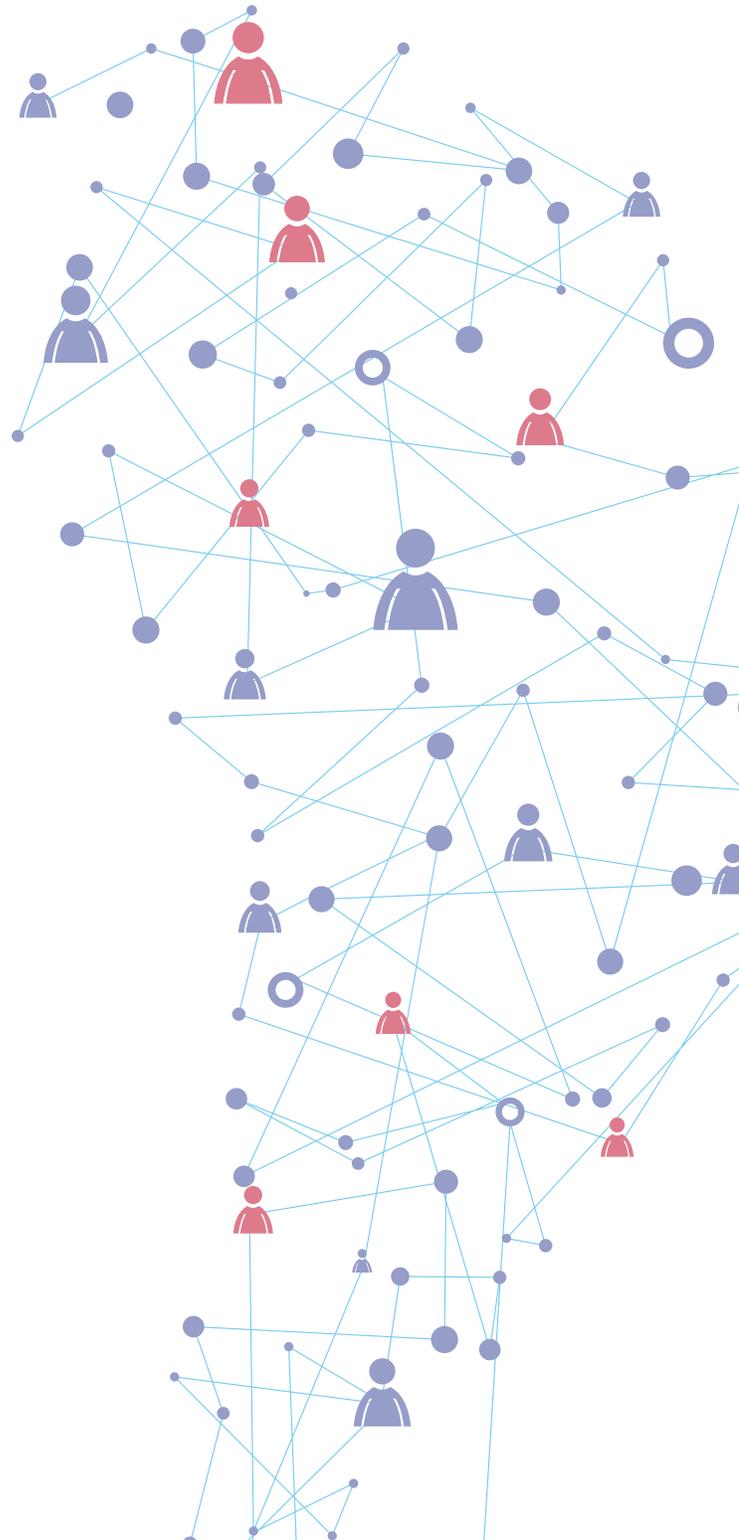
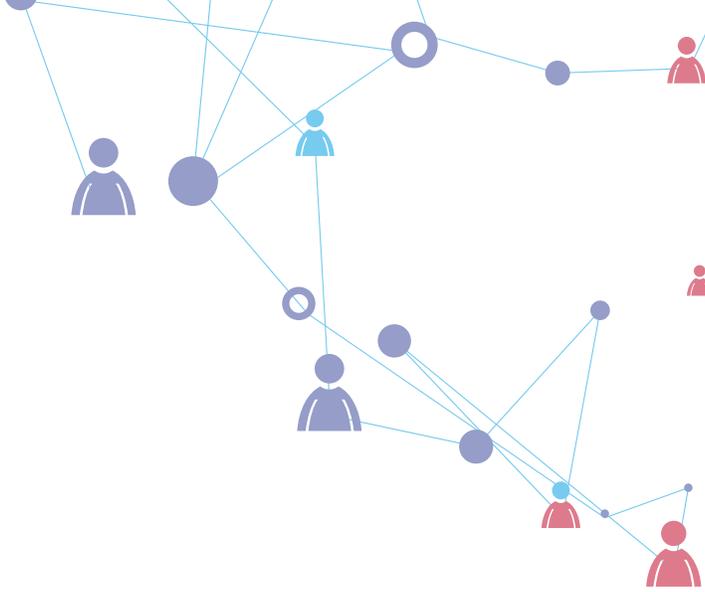
- b) soro de um provável caso de dengue ou outra arbovirose proveniente de áreas em que tenham sido notificados casos confirmados de sarampo ou rubéola;
- c) soro com resultado negativo para dengue ou outra arbovirose; e
- d) soro obtido em até 12 semanas a partir do último caso confirmado de sarampo ou rubéola.

.....

O laboratório deve manter um registro dessa atividade e notificar os dados de forma consolidada ao sistema de vigilância.

.....

Os resultados da busca ativa laboratorial fornecem dados que, juntamente com os critérios epidemiológicos e de vacinação, são úteis para verificar, após um surto, se a circulação do vírus do sarampo ou da rubéola foi interrompida.



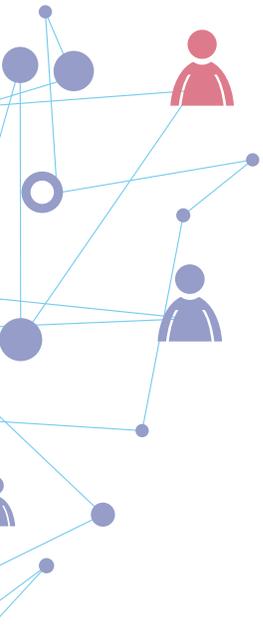
5. Testes laboratoriais em casos esporádicos

5.1 Confirmação laboratorial dos casos esporádicos

No contexto da eliminação, entre as amostras recebidas de casos de exantema e febre, haverá alguns casos com resultados IgM positivo ou indeterminado contra sarampo ou rubéola. Conforme a situação epidemiológica, os resultados podem sugerir um resultado IgM falso positivo ou podem estar vinculados a um caso relacionado com a vacina (23, 24). Os casos com resultado indeterminado (ou ambíguo) devem ser considerados como IgM positivos até que haja mais informações e análises disponíveis.

Para ter um alto nível de especificidade nos diagnósticos e facilitar a confirmação de casos e surtos, os LNs devem enviar amostras de soro para testes de verificação dos casos (testes complementares) ao LRR estabelecido pelo CRL. É necessário preencher e anexar o formulário para o envio de amostras dos LNs aos LRRs, para confirmação laboratorial de sarampo e rubéola (ver Anexo 2). O LME ou o LRR avaliará a necessidade de outros testes adicionais (avidez de IgG, RT-qPCR, sequenciamento) conforme as informações disponíveis para cada caso e os resultados serão notificados ao CRL e ao laboratório de origem.

No contexto da eliminação do sarampo e da rubéola, a classificação precisa dos casos depende de uma análise cuidadosa de todos os resultados laboratoriais e dos dados epidemiológicos. Portanto, recomenda-se que os casos sejam classificados somente após a equipe do laboratório e de epidemiologia avaliarem todos os resultados laboratoriais e os dados clínicos e epidemiológicos. É muito provável que os dados laboratoriais estejam ligados aos dados demográficos e epidemiológicos. Apesar de todos esses dados, pode ser difícil esclarecer todos os casos com base nos resultados laboratoriais e epidemiológicos. Por essa razão, as equipes de saúde pública devem se esforçar para obter informações completas dos casos com resultado IgM positivo, para que eles sejam devidamente analisados e classificados.



A OPAS recomendou que, para a comprovação da eliminação do sarampo e da rubéola, sejam obtidas amostras adequadas para a detecção do vírus e que se tenha informações do genótipo em pelo menos 80% dos surtos (4). A OMS especificou que a proporção de cadeias de transmissão confirmadas por laboratório com amostras obtidas e analisadas em um laboratório credenciado deve ser de pelo menos 80% (5). Durante a fase após a eliminação, os testes laboratoriais podem ser difíceis. Serão necessários testes sorológicos e virológicos para garantir a adequada detecção de vírus importados e orientar uma resposta rápida para executar as atividades destinadas a controlar a propagação ou transmissão do vírus.

Uma amostra adequada para isolamento do vírus ou para a RT-qPCR também pode melhorar a capacidade de classificar os casos, especialmente se as amostras forem obtidas durante os primeiros dias da doença, quando os resultados das análises sorológicas podem ser inconclusivos. No entanto, é importante destacar que um resultado negativo da cultura de células ou da RT-qPCR não descarta a infecção pelo vírus do sarampo ou da rubéola, uma vez que o teste é afetado pelo momento de obtenção ou pela qualidade da amostra.

Alguns laboratórios podem optar por realizar testes para outros vírus que provocam doenças causadoras de exantema, como dengue e outras arboviroses, eritrovírus B19, herpesvírus humano 6 (HHV-6) ou HHV-7 (roséola), entre outros, considerando que alguns desses agentes causadores provocam uma reação policlonal inespecífica e mais de um dos testes de IgM pode ser positivo. Portanto, os resultados iniciais devem ser confirmados com outros testes laboratoriais. Porém, considerando seu custo, pode não ser viável realizar testes sorológicos para os outros vírus e cada país terá que decidir se arcará ou não com os custos do diagnóstico diferencial.

5.2 Casos esporádicos nos quais podem ser necessários testes adicionais

Um resultado IgM positivo é suficiente para confirmar um caso de sarampo ou rubéola. No entanto, em algumas situações podem ser necessários testes adicionais, conforme descrito no Anexo 5. A seguir, são apresentados alguns exemplos que podem facilitar a tomada de decisões sobre os testes a serem realizados em determinados casos.

SITUAÇÃO 1. Resultado IgM positivo contra sarampo OU rubéola. Em uma amostra de soro de fase aguda, deve-se investigar mais cuidadosamente se o caso tinha as seguintes características:

- não foi vacinado recentemente (nas 8 semanas prévias ao aparecimento do exantema) (6, 30, 31);
- não teve qualquer exposição a um caso confirmado ou contato com visitantes internacionais; e
- não teve qualquer histórico de viagem nos 21 dias antes do aparecimento do exantema.

Nestes casos, **após examinar as variáveis clínicas e epidemiológicas, em colaboração com o epidemiologista e o CRL**, pode ser apropriado tentar realizar testes adicionais, conforme descrito a seguir (indicados na ordem de análise preferencial):

- Qualquer amostra obtida para a detecção do vírus deve ser analisada por meio de isolamento viral ou RT-qPCR. Um resultado positivo confirmará o caso, enquanto um resultado negativo será inconclusivo.
- Se aplicável, serão feitas análises para dengue ou outras arboviroses, para descartar a infecção por dengue ou outros arbovírus (por exemplo, amostras provenientes de uma área endêmica de uma arbovirose).
- Se for obtida uma segunda amostra de soro e o soro da fase aguda for IgG negativo, deve-se analisar a presença de IgG na segunda amostra. A soroconversão confirmará o caso. Se o soro da fase aguda for IgG positivo, pode ser usado um teste validado para documentar um aumento significativo no título entre a primeira e a segunda amostras de soro (as duas amostras devem ser processadas na mesma análise).
- Se houver somente uma amostra de soro disponível e o resultado for IgG positivo, deve-se analisar a avididade de IgG para sarampo ou rubéola.

Um resultado de IgG de baixa avididade pode ser usado para confirmar o caso.

SITUAÇÃO 2. Resultado IgM positivo contra sarampo E rubéola e o paciente não tem histórico de vacinação recente.

Esta situação (IgM positivo para sarampo e rubéola) pode indicar uma reação inespecífica (ou seja, deve-se considerar a possibilidade de outro agente causador, pois não foram descritas infecções simultâneas por ambos os vírus do tipo selvagem, e infecções sequenciais seriam muito raras em um contexto de eliminação). Em colaboração com o epidemiologista investigador, devem ser descartadas outras causas prováveis, como eritrovírus B19, dengue ou outras arboviroses, se possível. Deve-se realizar testes adicionais, conforme descrito abaixo, para confirmar a infecção pelo vírus do sarampo ou da rubéola.

- a) Se foram obtidas amostras para detecção do vírus, elas devem ser analisadas por meio de isolamento viral ou RT-qPCR. Um resultado positivo confirmará o caso, enquanto um resultado negativo será inconclusivo.
- b) Se for o caso, será feita uma análise para dengue ou outras arboviroses, a fim de descartar a infecção por dengue ou outras arboviroses.
- c) Se for obtida uma segunda amostra de soro e o soro da fase aguda for IgG negativo, deve-se analisar a presença de IgG na segunda amostra. A soroconversão para sarampo ou rubéola confirmará o caso.
- d) Se houver somente uma amostra de soro disponível e o resultado for IgG positivo, deve-se analisar a avididade de IgG para sarampo e rubéola. Um resultado de IgG de baixa avididade pode ser usado para confirmar uma infecção recente de sarampo ou rubéola.

SITUAÇÃO 3. Resultado IgM positivo contra sarampo OU rubéola, e o caso recebeu uma vacina nas 8 semanas antes do aparecimento do exantema e tem histórico recente de exposição a sarampo ou rubéola.

Esta é uma situação frequente durante os surtos, nos quais a vacinação faz parte da estratégia de controle do surto. Nesse caso, a resposta sorológica não pode ser utilizada para diferenciar a infecção natural de uma reação à vacina, sendo necessária uma caracterização genética do vírus isolado ou um produto de PCR.

- a) Se forem obtidas amostras para a detecção do vírus, deve-se tentar o isolamento do vírus em cultura de células (exceto amostras de fluido oral) ou a detecção do vírus com o uso de RT-qPCR. A confirmação da presença do vírus do tipo selvagem por meio da análise da sequência confirmará o caso, enquanto a

detecção de uma sequência de uma cepa vacinal irá descartá-lo.

- b) Se houver somente uma amostra de soro disponível e foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema, um resultado IgG positivo pode descartar um caso de rubéola aguda (não se aplica ao sarampo). Um resultado IgG negativo exige testes virológicos para confirmar o caso.

SITUAÇÃO 4. Resultado IgM negativo contra sarampo OU rubéola em uma amostra de soro de fase aguda obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema e há uma forte suspeita de sarampo ou rubéola devido a uma viagem recente, exposição recente ou porque o caso não tem histórico de vacinação.

- a) Se forem obtidas amostras para detecção do vírus, devem ser analisadas por meio de isolamento viral ou RT-qPCR. Um resultado positivo confirmará o caso, enquanto um resultado negativo será inconclusivo.
- b) Se houver somente uma amostra de soro disponível, deve-se analisar a possível presença de IgG contra sarampo ou rubéola. Um resultado IgG positivo para rubéola pode descartar o caso se for conhecida a data de aparecimento do exantema e a amostra foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema (não se aplica ao sarampo). Um resultado IgG negativo exigirá uma segunda amostra de soro para análise de soroconversão de IgG ou amostras para testes virológicos para confirmar o caso.

- c) Se for obtida uma segunda amostra de soro 3 dias após o aparecimento do exantema, deve ser feito um teste de IgM contra sarampo ou rubéola; um resultado positivo confirmará o caso. O caso é confirmado se o soro da fase aguda for IgG negativo e o soro da segunda amostra for IgG positivo; a soroconversão de IgM e IgG permitirá confirmar o caso com maior certeza.

SITUAÇÃO 5. Resultado IgM negativo ou indeterminado para sarampo ou rubéola em uma amostra de soro de fase aguda obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema e há uma forte suspeita de sarampo ou rubéola devido a uma viagem recente, exposição recente a um caso confirmado ou por histórico prévio de vacinação (> 4 meses antes do aparecimento do exantema).

- a) Deve-se repetir o teste de IgM e realizar o teste de IgG.
- b) Se forem obtidas amostras para a detecção de vírus, deve-se analisá-las com técnicas de isolamento viral ou RT-qPCR. Um resultado positivo confirmará o caso, enquanto um resultado negativo será inconclusivo.
- c) Se houver apenas uma amostra de soro disponível, deve-se analisar a possível presença de IgG contra sarampo ou rubéola. Um resultado IgG positivo para rubéola pode descartar esta doença se for conhecida a data de aparecimento do exantema e a amostra foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema (não se aplica ao sarampo). Se o resultado for IgG negativo, serão necessários resultados de uma segunda amostra de soro ou de amostras para testes virológicos, para confirmar o caso.
- d) Deve-se analisar uma segunda amostra de soro para detectar IgM contra sarampo ou rubéola, obtida do 4º ao 30º dia após o aparecimento do exantema. A soroconversão de IgM negativo para IgM positivo confirmará o caso mais rapidamente.
- e) A soroconversão de IgG contra sarampo ou rubéola também permite confirmar o caso.

6. Algoritmo para a realização dos testes

Com o objetivo de padronizar o uso das análises disponíveis na RRLSR, a OPAS desenvolveu dois algoritmos que os laboratórios devem seguir para melhorar o estudo dos casos e otimizar o uso dos recursos. O primeiro é um algoritmo de rotina (ver Anexo 6) para a análise de amostras de casos suspeitos de sarampo ou rubéola, incluindo testes sorológicos e virológicos. O segundo, denominado algoritmo complementar (ver Anexo 7), fornece orientação para a análise das amostras sorológicas quando os testes prévios apresentaram um resultado IgM positivo ou indeterminado (ou ambíguo).

6.1 Algoritmo de rotina para a análise de casos suspeitos de sarampo ou rubéola

A vigilância laboratorial de rotina para sarampo e rubéola se baseia na detecção de IgM por meio do ELISA. Todas as amostras de soro de casos suspeitos de sarampo e rubéola devem ser analisadas simultaneamente para determinar anticorpos IgM contra sarampo e rubéola. Em um contexto de eliminação das doenças, **qualquer resultado IgM positivo ou indeterminado (ou ambíguo) deve ser analisado novamente**. Se o resultado **da repetição da análise** for indeterminado, o resultado final deve ser considerado “indeterminado” e devem ser seguidos os critérios de orientação do Anexo 6 para documentar as medidas adotadas para tentar classificar o caso.

Qualquer resultado IgM positivo deve ser imediatamente notificado ao sistema de vigilância e à instituição de saúde que enviou a amostra. Se houver amostras disponíveis para a detecção de vírus, deve-se analisá-las usando RT-qPCR e tentar identificar o genótipo nas amostras positivas (no número recomendado de casos por surto ou por intervalo de tempo, se for um surto que dura vários meses).

Em casos com resultado IgM positivo, nos quais se suspeita de IgM falso positivo (ou seja, as evidências clínicas ou epidemiológicas sugerem que não se trata de casos de sarampo ou rubéola), o laboratório pode considerar a realização de um diagnóstico diferencial considerando outras doenças exantemáticas, como as causadas por arbovírus, eritrovírus B19 ou herpesvírus humano 6 (HHV-6), entre outras. Cada laboratório membro da RRLSR deve consultar o epidemiologista/vigilância epidemiológica e trabalhar em conjunto para determinar o melhor procedimento a seguir com base em disseminação geográfica, circunstâncias locais e recursos disponíveis.

Se o resultado for IgM negativo, é preciso notificá-lo ao sistema de vigilância e à instituição de saúde que enviou a amostra. Se houver suspeita de resultado IgM falso negativo (devido à apresentação clínica do caso e a avaliação do risco epidemiológico) e a amostra de soro foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema, devem ser tomadas as seguintes medidas: 1) deve-se realizar um teste de IgG na amostra de soro; 2) se houver amostras disponíveis para detecção do vírus, deve-se analisá-las por RT-qPCR; e 3) deve ser solicitada uma segunda amostra de soro para realizar testes de IgM/IgG, para determinar se há evidência de soroconversão.

6.2 Algoritmo complementar para análise sorológica de amostras com um resultado inicial IgM positivo ou indeterminado

Em um contexto de baixa incidência da doença, a equipe de saúde pública enfrentará o desafio de classificar um resultado **IgM positivo** ou **indeterminado** quando não foram notificados casos confirmados durante muitos meses ou anos, ou quando não há evidências de viagem ou contato com casos confirmados. Todos os casos com um resultado inicial **IgM positivo ou indeterminado** devem ser objeto de um estudo detalhado.

Se a primeira amostra de soro for consumida para o teste de IgM, deve-se solicitar uma segunda amostra de soro para realizar o teste de anticorpos IgG. Se o resultado da segunda amostra for IgG negativo, o laboratório deve notificar o resultado e o caso deve ser descartado (32,33). Se o resultado for IgG positivo, a amostra deve ser enviada ao LRR ou LME para a realização de testes de avidéz. A baixa avidéz confirma uma

infecção recente e a alta avidéz sugere que ocorreu a exposição >3 meses antes da obtenção da amostra.

Se a primeira amostra de soro estiver disponível, deve-se realizar o teste de IgG. Um resultado IgG negativo indica ausência de imunidade ou exposição anterior. Um resultado IgG positivo exigirá uma interpretação cuidadosa para determinar se ocorreu como consequência de uma infecção recente ou se há qualquer evidência indicativa de imunidade prévia.² Para esclarecer a interpretação do resultado da IgG na primeira amostra, deve-se solicitar uma segunda amostra, que será obtida 14 a 21 dias após a obtenção da primeira amostra de soro.

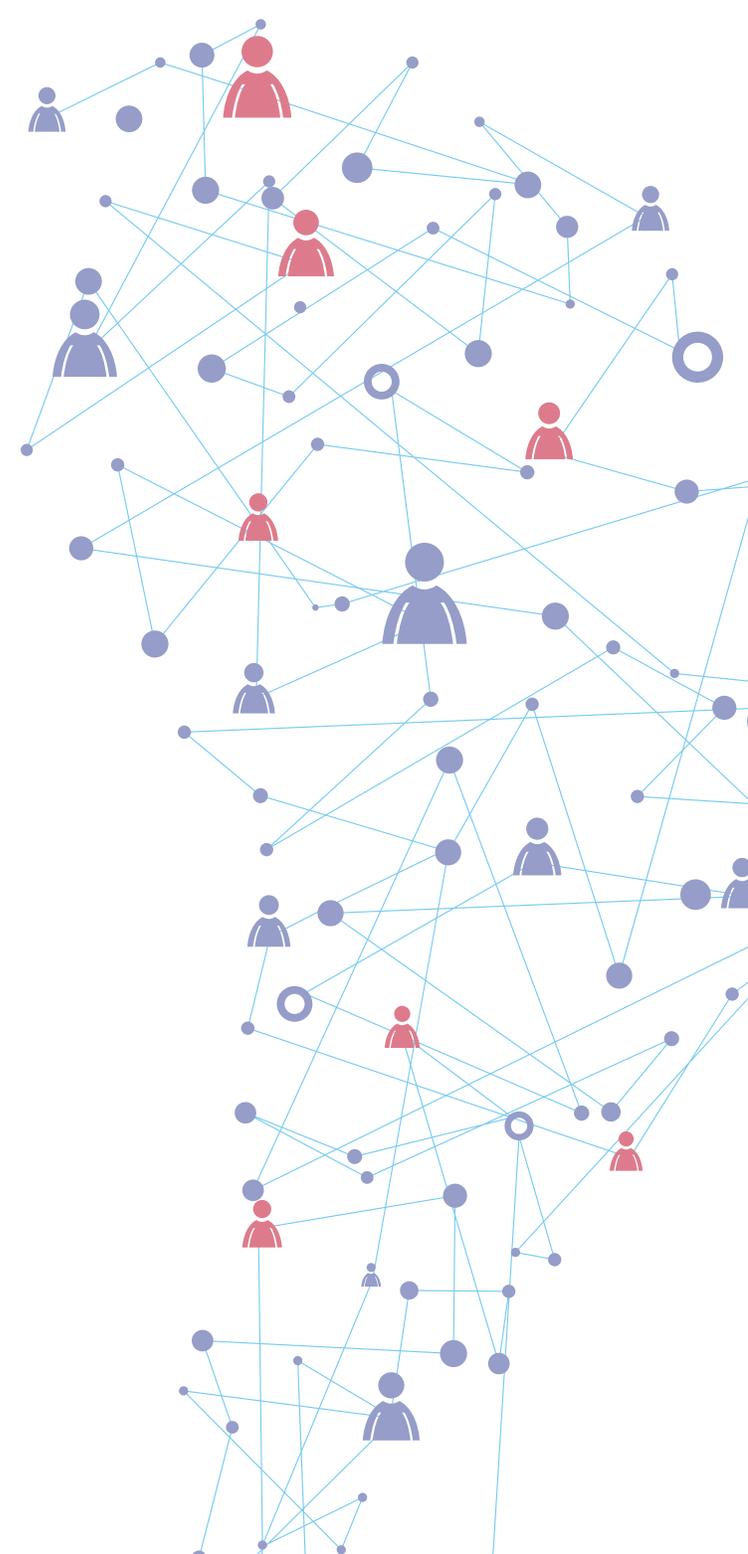
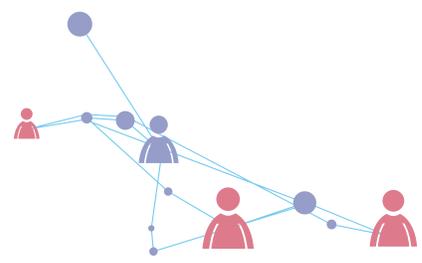
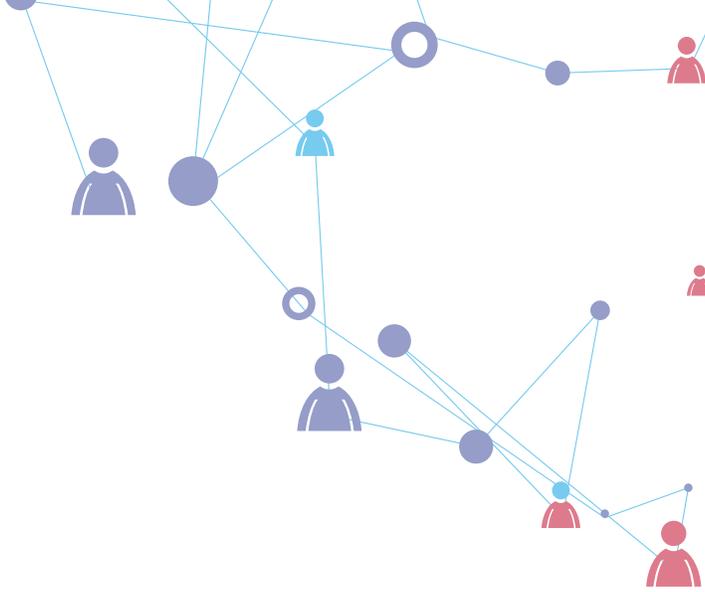
Se o resultado da primeira amostra analisada for IgG negativo e foi obtida uma segunda amostra para análise de IgG, os resultados devem ser interpretados da seguinte forma: 1) um resultado IgG positivo na segunda amostra sugere soroconversão (passagem de resultado IgG negativo para IgG positivo) e contato recente com o vírus; 2) se a segunda amostra tiver um resultado IgG negativo, não há evidências de contato com o vírus (recente ou antigo) e se descarta a infecção aguda.

Quando o resultado da primeira amostra for IgG positivo, a segunda amostra deve ser analisada em paralelo com a primeira (soros pareados da fase aguda e da fase de convalescença) para determinar os títulos de IgG. Os resultados devem ser interpretados de acordo com os seguintes critérios: 1) se os títulos de IgG se mantiverem estáveis, não há evidências indicativas de contato recente com o vírus; 2) se os títulos de IgG aumentarem significativamente (com base nos critérios de interpretação do teste), há evidências indicativas de um contato ou infecção recente pelo vírus; e 3) se os títulos de IgG aumentarem, mas não significativamente, o resultado é indeterminado (não é possível confirmar ou descartar a possibilidade de contato recente com o vírus). Recomenda-se verificar os tempos de obtenção das amostras para garantir que foram obtidas durante a fase aguda e a fase de convalescença (a primeira amostra de soro em até 7 dias a partir do aparecimento do exantema e a segunda 14 a 21 dias após isso). Quando as amostras de soro são obtidas em um curto período, mesmo em um caso verdadeiro, o tempo que se deixa para o aumento do título de IgG não é suficiente para que ocorra um aumento significativo.

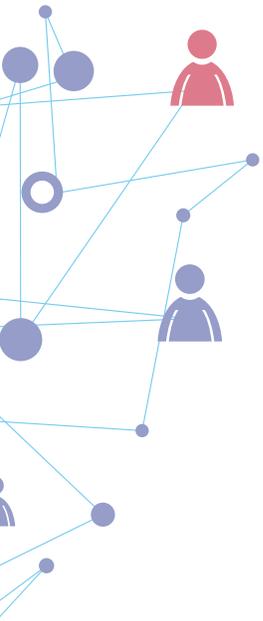
² Esses resultados devem ser correlacionados com o momento em que as amostras foram obtidas.

Em alguns casos, quando não é possível obter uma segunda amostra de soro e o resultado da primeira amostra é IgG positivo, deve-se realizar o teste de avidéz. Se nos testes de avidéz forem observados anticorpos IgG com baixa avidéz devido a uma baixa afinidade, o caso a partir do qual provém a amostra teve um contato recente com o vírus. A presença de anticorpos IgG com alta avidéz é uma evidência indicativa de que o caso teve uma resposta imune ao vírus no passado e pode ser descartada uma infecção recente. No entanto, em alguns casos de reinfecção de sarampo ou falha secundária à vacinação, apresenta-se alta avidéz e elevados títulos de anticorpos neutralizantes (34,35,36,37)

Para a classificação final de um caso, as equipes de saúde pública (epidemiologia, imunização, laboratório) devem analisar os resultados de todos os testes realizados, os dados clínicos e epidemiológicos disponíveis (contato com um caso previamente confirmado, contato com estrangeiros, visita recente a países onde persistem a circulação do vírus, sinais e sintomas etc.). A correta interpretação dos dados e uma classificação mais precisa dos casos podem fortalecer a realização de atividades de controle apropriadas e ajudar a manter a Região das Américas livre do sarampo e da rubéola.



7. Função do laboratório de sarampo e rubéola durante os surtos



O laboratório tem desempenhado um papel importante no sistema de vigilância da eliminação do sarampo e da rubéola por meio de realização de testes padronizados, notificação dos resultados e cumprimento adequado dos padrões de alta qualidade, permitindo a documentação e comprovação da eliminação das doenças mencionadas nos países da Região das Américas.

Será preciso manter um excelente desempenho dos laboratórios para garantir a detecção precoce de casos importados e a correta apresentação dos resultados às autoridades de saúde, para que possam tomar as decisões adequadas para minimizar a probabilidade de disseminação do vírus e controlar com sucesso os surtos dessas doenças.

7.1 Como lidar com um caso esporádico importado

- Não é possível saber com antecedência se o caso é real, por isso a importância do cumprimento dos prazos para determinar os indicadores de notificação oportuna dos resultados (≤ 4 dias).
- Notificar imediatamente o caso à instituição de saúde de origem das amostras e ao epidemiologista responsável pelo sistema de vigilância.
- Examinar a disponibilidade de amostras para a análise virológica e molecular. Realizar testes de detecção do vírus e de determinação do genótipo, se houver amostras que permitam fazê-lo.
- Diante da suspeita de resultado falso positivo, realizar um diagnóstico diferencial

em função da situação epidemiológica em que se encontra a área de origem do caso e de acordo com a disponibilidade de reagentes no laboratório.

- Solicitar imediatamente aos profissionais de saúde (instituição de saúde de origem, epidemiologia) a obtenção de amostras adicionais para realizar os testes complementares. Recomenda-se especificar o tipo de amostra necessária e o momento apropriado para obtê-la.
- Realizar, dependendo da disponibilidade de amostras e da capacidade técnica instalada, testes laboratoriais adicionais, soroconversão de IgG, avidéz de IgG, PCR, sequenciamento.
- Notificar ao departamento de epidemiologia os resultados de testes adicionais ou complementares.
- Participar ativamente da unidade de estudo dos casos.
- Enviar as amostras junto com as informações do caso ao LRR ou ao LME, para a realização de testes de confirmação e controle de qualidade.
- Examinar a disponibilidade de reagentes e recursos humanos que permitam ao laboratório responder a um aumento na notificação de casos (mais amostras, mais testes).
- Notificar os responsáveis pela gestão do laboratório sobre os estoques disponíveis e a necessidade de recursos adicionais.

Notificar os responsáveis pela gestão do laboratório sobre os estoques disponíveis e a necessidade de recursos adicionais.

7.2 Como lidar com uma cadeia de transmissão

- O cumprimento dos indicadores de vigilância é de extrema importância e devem ser feitos todos os esforços possíveis para garantir que esses indicadores sejam seguidos.
- Em todas as amostras recebidas de regiões ou municípios com casos confirmados, devem ser realizadas análises específicas para o vírus identificado na transmissão (5); não é necessário fazer um diagnóstico diferencial com o outro vírus que está sendo objeto da vigilância integrada.
- Confirmar a presença do vírus e documentar o genótipo viral associado à cadeia de transmissão.
- Recomenda-se a vigilância virológica para um surto de sarampo ou rubéola. Para evitar a saturação do laboratório, deve-se otimizar o uso dos recursos e garantir o suporte do laboratório antes, durante e após o surto; as seguintes amostras devem ser priorizadas na análise de RT-qPCR:
 - Os primeiros 3 a 10 casos suspeitos diretamente relacionados ao caso índice.
 - Os primeiros 3 a 10 casos suspeitos que ocorrerem em uma nova região ou município.
 - Os primeiros 3 a 10 casos suspeitos que ocorrerem a cada dois meses na mesma região ou município onde os casos foram confirmados.
- A busca ativa laboratorial deve ser considerada uma estratégia útil para documentar a presença de casos, especialmente no início do surto em áreas ou períodos em que houve pontos fracos na vigilância. Deve-se seguir os critérios a, b e c da seção 4.2.1 deste documento e, além disso, a amostra deve ser obtida nos 30 dias anteriores à data de aparecimento do exantema no caso índice e no mesmo município.
- Uma busca ativa laboratorial também deve ser considerada como um dos componentes necessários para documentar a interrupção da transmissão do vírus em uma comunidade e como parte da evidência chave para considerar um surto encerrado. Devem ser seguidos os critérios contidos na seção 4.2.3 deste documento.

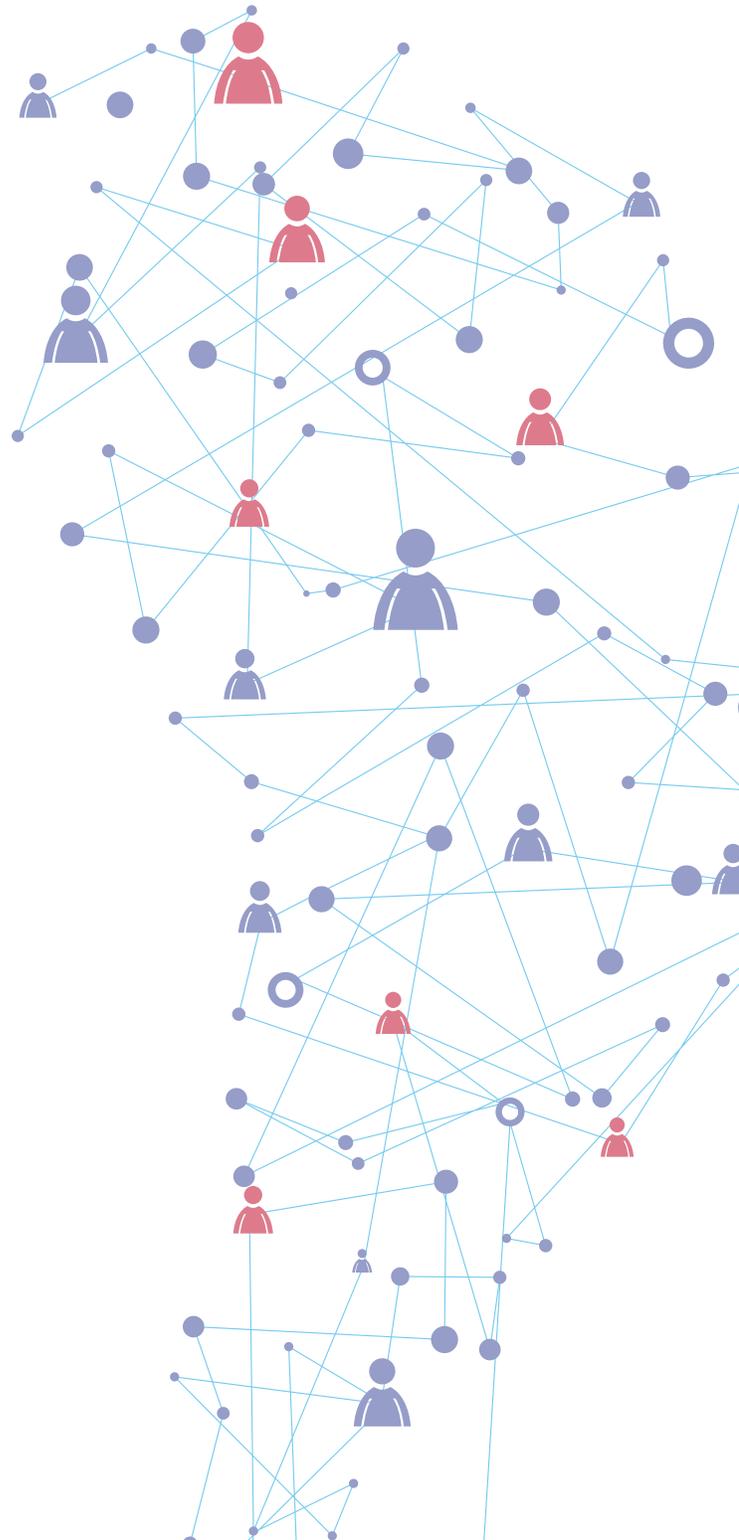
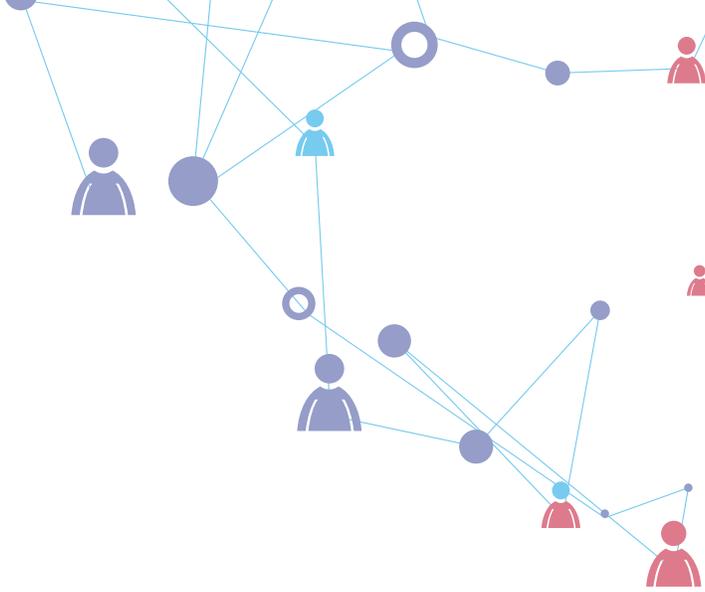
- Todas as amostras de casos suspeitos provenientes de municípios ou estados onde não tenha sido documentada a circulação do vírus do sarampo ou da rubéola, ou onde não haja histórico de uma relação ou vínculo epidemiológico com um caso confirmado, devem continuar sendo analisadas de acordo com o algoritmo definido para a vigilância integrada do sarampo e da rubéola.

É importante fazer um acompanhamento virológico do surto, principalmente para ter evidências indicativas de uma nova importação ou introdução de um novo genótipo (Anexos 9 e 10). Isso será muito útil se, finalmente, a transmissão for mantida por mais de 12 meses, indicando que se deve considerar que houve um restabelecimento da circulação do vírus e, portanto, a situação de eliminação foi perdida.

7.3 Recomendações adicionais para as cadeias de transmissão do sarampo ou da rubéola

- Verificar a disponibilidade ou existência dos insumos laboratoriais e otimizar a resposta laboratorial em função da situação epidemiológica e dos recursos existentes.
- Priorizar a análise das amostras de áreas ou regiões onde a circulação do vírus não tenha sido confirmada anteriormente, juntamente com aquelas em que haja contato com casos positivos ou casos com um quadro clínico muito indicativo.
- Manter uma comunicação permanente com o pessoal que trabalha em campo; formular as recomendações necessárias para otimizar a obtenção, manuseio e transporte das amostras.
- Estar alerta para a possível presença de casos de reinfecção pelo vírus do sarampo, a fim de avaliar se o laboratório tem capacidade para realizar os testes que permitem analisar adequadamente tais casos.
- Manter um inventário atualizado dos insumos laboratoriais e recursos humanos disponíveis para manter a capacidade de resposta do laboratório por várias semanas ou meses. Otimizar o uso de insumos, recursos humanos e amostras.
- Notificar regularmente os responsáveis pela gestão do laboratório sobre os estoques disponíveis e a necessidade de recursos adicionais.
- Solicitar o apoio do laboratório de referência e da OPAS, se necessário.
- Manter um banco de dados com um inventário de todas as amostras recebidas no laboratório, testes realizados, resultados notificados e respectivas datas.
- Manter as boas práticas laboratoriais, garantindo a qualidade dos resultados apresentados ao sistema de vigilância.
- Apresentar ao diretor do laboratório e ao epidemiologista responsável pela resposta ao surto um relatório integral das atividades realizadas pelo laboratório (ver anexos 8, 9 e 10).
- Não se deixar pressionar pelo ambiente e manter critérios técnicos de acordo com as recomendações da RRLSR.

As informações epidemiológicas e laboratoriais permitirão documentar adequadamente as cadeias de transmissão, otimizar os recursos e orientar a implementação das medidas de controle adequadas.

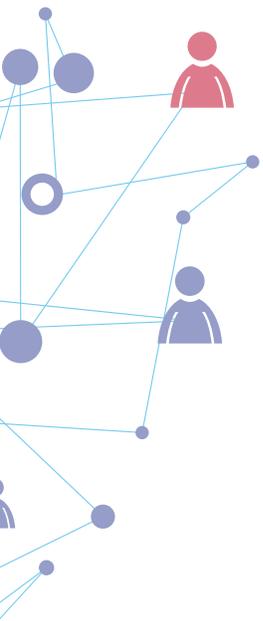


8. Garantia da qualidade

Para ter a documentação adequada para demonstrar que a eliminação do sarampo e da rubéola foi alcançada é necessário que os LNs produzam dados de vigilância laboratorial com a mais alta qualidade possível (38). A documentação inclui relatórios de cada país da Região baseados nos resultados de um laboratório credenciado. A acreditação como laboratório de sarampo e rubéola dentro da RMLSR é examinada anualmente pela OPAS/OMS (no próprio centro ou à distância), com base no funcionamento do laboratório durante os 12 meses anteriores, e a aprovação é concedida para os 12 meses seguintes. O objetivo é supervisionar a qualidade da RMLSR, o que é útil para detectar possíveis problemas ou fortalecer a capacidade, caso seja necessário.

O processo de revisão para acreditação mundial avalia os seguintes componentes:

- notificação adequada dos resultados de IgM ao sistema de vigilância;
- precisão na detecção de IgM;
- aplicação de procedimentos internos de controle de qualidade;
- competência nos testes de IgM;
- competência nos testes moleculares;
- apresentação adequada dos resultados de detecção de RNA e determinação do genótipo ao sistema de vigilância e à OPAS/OMS;
- envio adequado de amostras para isolamento e detecção dos vírus ao LRR;
- treinamento e qualificação do pessoal de laboratório;
- procedimentos de trabalho laboratorial e normas de trabalho:
 - espaço e salas disponíveis,
 - gestão e supervisão,
 - procedimentos de trabalho padronizados para o manuseio e inventário das amostras, incluindo protocolos de biossegurança e contenção de material infeccioso,
 - equipamento,
 - insumos,
 - comunicação com a equipe de epidemiologia e vigilância,
 - gestão dos dados;



- pontuação obtida na revisão dos procedimentos de trabalho laboratorial e das normas de trabalho, realizada no próprio centro;
- capacidade do laboratório para realizar isolamento de vírus, detecção de RNA, sequenciamento, testes de avidéz de IgG e outros testes para diagnóstico diferencial, se houver recursos disponíveis.

Além disso, a RRLSR avalia o seguinte:

- Notificação trimestral à OPAS de casos esporádicos de sarampo ou rubéola com resultado IgM positivo ou indeterminado.
- Funcionamento das redes de laboratórios subnacionais, se aplicável.

Nas seções a seguir, são abordados os componentes relacionados à garantia da qualidade dos testes regulares, bem como a notificação dos resultados no âmbito da RRLSR.

8.1 Participação no programa mundial de ensaios de proficiência dos testes de IgM

No ano 2000, a RMLSR lançou um programa mundial de ensaios de proficiência com base no uso de um painel de 20 amostras de soro de pacientes com histórico recente de sarampo, rubéola ou outras doenças exantemáticas.

Os painéis de ensaios de proficiência (EC) são fornecidos aos membros do RMLSR para avaliar sua capacidade de detectar IgM contra sarampo e rubéola usando o teste ELISA. Os painéis de EC são preparados pelo Laboratório Victoriano de Referência em Doenças Infecciosas (VIDRL, na sigla em inglês) em Melbourne, Austrália. O VIDRL é um LRR para a Região do Pacífico Ocidental e, por designação da RMLSR da OMS, é responsável pela produção dos painéis de EC e relatórios de avaliação (39). Na Região das Américas, a distribuição dos painéis aos membros da RRLSR é coordenada pelos CDC, como o LME, em conjunto com representantes do programa do país, gerentes dos laboratórios e o CRL.

A análise e a apresentação dos resultados devem ser adequadas, conforme descrito nos documentos de acreditação. Os resultados são enviados à OPAS, à sede da OMS em Genebra e ao VIDRL. Após a apresentação dos resultados, o laboratório recebe um relatório do VIDRL no prazo de 10 dias.

O CRL deve: 1) fazer o acompanhamento da participação dos LN no programa de EC em relação ao IgM; e 2) elaborar planos de melhoria em todos os casos em que ocorrer um baixo desempenho, trabalhando em colaboração com a equipe desses laboratórios para melhorar a sua capacidade.

8.2 Controle de qualidade indireto dos testes de IgM

O envio de soro das análises de rotina realizadas nos LNs ao laboratório de referência designado (LLR ou LME) para o controle de qualidade (precisão) é um componente importante do programa de garantia de qualidade da RMLSR.

Para garantir um alto nível de confiança na qualidade dos testes sorológicos realizados pela RRLSR para a detecção da IgM (contra sarampo e rubéola), todos os LNs devem enviar, uma vez por ano, amostras de soro ao LRR (estabelecido pelo CRL), para avaliar o controle de qualidade. As amostras devem ser selecionadas aleatoriamente entre as processadas nos 12 meses anteriores, devem ter um volume suficiente e ser organizadas de forma consecutiva com respeito aos resultados de IgM. Deve-se cumprir os seguintes critérios na seleção das amostras:

- pelo menos 10 amostras com resultado IgM negativo contra sarampo;
- até 10 amostras com resultado IgM positivo para sarampo;
- pelo menos 10 amostras com resultado IgM negativo contra rubéola;
- até 10 amostras com resultado IgM positivo contra rubéola; e
- até 10 amostras com resultado indeterminado de IgM contra sarampo ou rubéola.

O LN deve preencher o formulário para enviar as amostras ao LRR ou ao LME, para avaliação do controle de qualidade (Anexo 2) e deve incluí-lo no envio. O LRR utilizará o formulário que receber para atualizar o registro dos resultados.

Os testes diagnósticos realizados pelo LN serão analisados pelo LME ou pelo LRR e os resultados serão comunicados ao LN que enviou as amostras e ao CRL. No caso de resultados discordantes, serão realizados testes adicionais ou consultas ao LME ou LRR através do CRL para resolver quaisquer problemas percebidos.

dos. Os resultados da avaliação do controle de qualidade serão registrados na lista de verificação para a acreditação anual da OPAS/OMS e farão parte da pontuação de acreditação.

8.3 Participação no programa mundial de ensaios de proficiência dos testes moleculares

Desde 2015, a OMS e os CDCs lançaram um programa de EC para técnicas moleculares. Os membros da RMLSR que realizam testes moleculares participam desse programa.

O painel de EC consiste em discos de papel de filtro FTA® 4 contendo lisados de células infectadas com o vírus do sarampo ou da rubéola do tipo selvagem. Todos os discos são não infecciosos e o RNA deve ser extraído e analisado com testes moleculares usados em laboratório. Os resultados devem ser apresentados usando o formulário de notificação fornecido com o painel de EC.

Os resultados do painel de EC enviados pelos LNs e LRRs são avaliados pelo LME (CDC) com base nos seguintes critérios:

- a capacidade de detectar o RNA do sarampo e da rubéola por RT-qPCR;
- a capacidade de gerar os amplicons (fragmentos amplificados) necessários para a análise do genótipo; e
- a capacidade de realizar o sequenciamento e a análise da sequência para identificar corretamente o genótipo do vírus.

Usando esses critérios, a análise molecular é avaliada pelo LME e o laboratório participante e o CRL são notificados. Em alguns casos, solicita-se aos LNs que repitam a análise de uma ou mais amostras e apresentem o resultado correto antes que o laboratório seja considerado competente em análise molecular. Esses

resultados devem ser incluídos na lista de verificação de acreditação anual da OPAS/OMS e são levados em consideração na pontuação de acreditação.

8.4 Controle de qualidade de análises moleculares: RT-qPCR e sequenciamento

A alta sensibilidade dos métodos de PCR pode levar a resultados falso positivos causados pela contaminação por produtos de PCR anteriores ou amplicons.³ Também é possível a contaminação cruzada entre as amostras (40).

Seguir as recomendações fornecidas a seguir pode reduzir a probabilidade de contaminação:

- mantenha um fluxo de trabalho unidirecional;
- certifique-se de que não haja troca de insumos ou equipamentos entre o espaço em que a amostra é preparada e o espaço em que os reagentes são preparados, nem entre os espaços em que a amplificação ou detecção é realizada e aqueles em que as amostras são preparadas;
- use luvas em todos os experimentos para evitar a contaminação com as ribonucleases (RNases) existentes nas mãos;
- troque as luvas após tocar na pele, em maçanetas e superfícies comuns;
- use um conjunto exclusivo de pipetas, que devem ser usadas somente para o trabalho de RNA;
- use pontas de filtro e tubos que tenham sido testados e garantidos como livres de RNases;
- use produtos químicos e reagentes livres de RNases;
- reduza a contaminação por RNases limpando suportes para tubos, micropipetas mecânicas e superfície de trabalho da cabine de PCR com etanol 70% e lenços RNaseZap®.⁴
- reduza a contaminação por ácido desoxirribonucleico (DNA) com exposição à luz ultravioleta por 15 minutos (de acordo com os protocolos dos CDCs).

3 Segmentos de DNA aos quais foi aplicada uma amplificação e que, portanto, contêm material genético replicado.

4 <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/AM9780>

8.5 Documentação de casos esporádicos com IgM positivo

O CRL preparará resumos incluindo todos os dados de desempenho do laboratório, como *status* de acreditação, resultados obtidos nos painéis de EC e testes de confirmação. O resumo será distribuído a todos os membros da RRLSR e pessoas responsáveis pelos programas de combate ao sarampo e à rubéola dos países. Esses dados serão fundamentais para avaliar a qualidade das análises laboratoriais durante a fase posterior à eliminação do sarampo e da rubéola na Região das Américas.

Deve-se fornecer trimestralmente ao CRL (ver Anexo 3) a documentação dos casos esporádicos com resultado IgM positivo, independentemente de sua classificação final (ver seção 5). São esperados casos esporádicos com resultado IgM positivo quando a prevalência da doença é baixa (ver Anexo 4). Esses casos servem para medir a capacidade do sistema de vigilância (30). O registro desses casos em um formato padronizado: 1) permite uma avaliação consolidada desses casos como parte da revisão geral da vigilância laboratorial; 2) facilita a classificação dos casos; e 3) facilita a geração de informações a serem publicadas em artigos científicos, além de fornecer evidências valiosas para gerar diretrizes.

8.6 Notificação dos dados

A notificação padronizada é fundamental para o sucesso da RRLSR. É recomendável a adesão aos protocolos

recomendados para a notificação dos dados. A maioria dos laboratórios informa os resultados sorológicos de rotina à OPAS por meio do Sistema de Vigilância para a Eliminação do Sarampo ou do banco de dados do Sistema Integrado de Informação de Vigilância. O relatório dos resultados deve incluir, no mínimo, as seguintes informações: nome do laboratório, tipo de amostra, número de registro do laboratório, número de identificação da amostra, última vacina contra sarampo e rubéola, data de aparecimento do exantema, data de obtenção da amostra, data de recebimento, tipo de teste, resultado de cada teste, critérios de interpretação de cada teste, data de apresentação dos resultados e nome do responsável pelo laboratório ou da pessoa que realizou os testes.

A notificação adequada dos dados de sequenciamento e das informações do vírus é um componente fundamental da vigilância laboratorial em um contexto de eliminação e na fase posterior à eliminação. Após a identificação de um genótipo, os laboratórios que realizam análises da sequência devem notificá-lo ao CRL o mais rápido possível. Devido às complexidades da análise da sequência, especialmente para o vírus da rubéola, mas também para o vírus do sarampo, as determinações de genótipos (filogramas) podem ser compartilhadas com os LRRs ou LMEs antes de enviar informações aos bancos de dados. As informações do genótipo do vírus devem ser transmitidas aos bancos de dados mundiais de sequências de sarampo e rubéola da OMS, Measles Nucleotide Surveillance-MeaNS⁵ e Rubella Nucleotide Surveillance-RubeNS⁶ e ao CRL, no prazo de dois meses a partir do recebimento das amostras.

5 <http://www.who-measles.org>

6 www.who-rubella.org

9. Referências bibliográficas

1. Organização Pan-Americana da Saúde. Elimination of measles in the Americas. XXIV Meeting of the Pan American Sanitary Conference, Washington, DC, 1995.
2. de Quadros CA, Olive JM, Hersh BS, Strassburg M, Henderson DA, Brandling-Bennett D, et al. Measles elimination in the Americas—evolving strategies. *JAMA* 1996; 275:224-9.
3. Organização Pan-Americana da Saúde. XVIII Reunião do Grupo Técnico Assessor (GTA) sobre Doenças Imunopreveníveis, Costa Rica, 2009.
4. Organização Pan-Americana da Saúde. Plano de ação para a documentação e verificação da eliminação do sarampo, da rubéola e da síndrome da rubéola congênita na Região das Américas. Washington: OPAS; 2011.
5. Organização Mundial da Saúde. Framework for verifying elimination of measles and rubella. *WER* 2013, 88(9), 89-100.
6. Organização Pan-Americana da Saúde. Measles elimination field guide. 2ª ed. Washington: OPAS; 2005. Disponível em: http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/FieldGuide_Measles_2ndEd_e.pdf.
7. Região do Pacífico Ocidental da OMS. Measles Elimination Field Guide. 2013.
8. Venczel L, Rota J, Dietz V, Morris-Glasgow V, Siqueira M, Quiroz E, et al. The Measles Laboratory Network in the Region of the Americas. *J Infect Dis*. 2003; 187 Suppl 1:S140-5.
9. Roush SW, Beall B, Cassidy P, Gentsch J, Icenogle J, Mayer L, et al. Chapter 22: Laboratory support for surveillance of vaccine-preventable diseases. Em: Roush SW, Baldy LM, editores. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. 5ª ed. Atlanta: Centros de Controle e Prevenção de Doenças; 2012.
10. Organização Mundial da Saúde. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection. 2ª ed. Geneva: OMS; 2007.
11. Bispo de Filippis AM, Icenogle J, Matus CR, Andrus JK. Enhanced laboratory surveillance for the elimination of rubella and congenital rubella syndrome in the Americas. *J Infect Dis*. 2011;204 Suppl 2:S652-8.
12. McLean H, Redd S, Abernathy E, Icenogle J, Wallace G. Capítulo 14: Rubella. Em: Roush SW, Baldy LM, editores. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. 5ª ed. Atlanta: Centros de Controle e Prevenção de Doenças; 2012.
13. Moss WJ, Griffin DE. Measles. *Lancet*. 2012; 379(9811):153-64.
14. Abernathy E, Cabezas C, Sun H, Zheng Q, Chen MH, Castillo-Solorzano C, et al. Confirmation of rubella within 4 days of rash onset: comparison of rubella virus RNA detection in oral fluid with Immunoglobulin M detection in serum or oral fluid. *J Clin Microbiol*. 2009;47(1):182-8.
15. Ozanne G, d'Halewyn MA. Performance and reliability of the Enzygnost measles enzyme-linked immune-sorbent assay for detection of measles virus-specific immunoglobulin M antibody during a large measles epidemic. *J Clin Microbiol*. 1992;30(3):564-9.
16. Tipples GA, Hamkar R, Mohktari-Azad T, Gray M, Parkyn G, Head C, et al. Assessment of immunoglobulin M enzyme immunoassays for diagnosis of measles. *J Clin Microbiol*. 2003;41(10):4790-2.
17. Cohen BJ, Dobals D, Andrews N. Comparison of plaque reduction neutralisation test (PRNT) and measles virus-specific IgG ELISA for assessing immunogenicity of measles vaccination. *Vaccine*. 2008;26(50):6392-7.
18. Pannuti CS, Morello RJ, Moraes JC, Curti SP, Afonso AM, Camargo MC, et al. Identification of primary and secondary measles vaccine failure by measurement of immunoglobulin G avidity in measles cases during the 1997 São Paulo epidemic. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004;11(1):119-22.

19. Paunio M, Hedman K, Davidkin I, Valle M, Heinonen OP, Leinikki P, et al. Secondary measles vaccine failures identified by measurement of IgG avidity: high occurrence among teenagers vaccinated at a young age. *Epidemiol Infect.* 2000;124(2):263–71.
20. Mercader S, Garcia P, Bellini WJ. Measles virus IgG avidity assay for use in classification of measles vaccine failure in measles elimination settings. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(11):1810–7.
21. Mubareka S, Richards H, Gray M, Tipples GA. Evaluation of commercial rubella immunoglobulin G avidity assays. *J Clin Microbiol.* 2006;45(1): 231–3.
22. Kutty P, Rota J, Bellini W, Redd SB, Barskey A, Wallace G. Capítulo 7: Measles. Em: Roush SW, Baldy LM, editors. *Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases.* 6ª ed. Atlanta: Centros de Controle e Prevenção de Doenças; 2013.
23. Centros de Controle e Prevenção de Doenças. Progress toward measles elimination—region of the Americas, 2002–2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2004;53(14):304–6.
24. Icenogle JP, Siqueira MM, Abernathy ES, Lemos XR, Fasce RA, Torres G, et al. Virologic surveillance for wild-type rubella viruses in the Americas. *J Infect Dis.* 2011;204 Suppl 2:S647–51.
25. Lazar M, Abernathy E, Chen MH, Icenogle J, Janta D, Stanescu A, et al. Epidemiological and molecular investigation of a rubella outbreak, Romania, 2011 to 2012. *Euro Surveill.* 2016;21(38).
26. Organização Mundial da Saúde. Measles virus nomenclature update: 2012. *WER.* 2012;87(9):73–81.
27. Organização Mundial da Saúde. Rubella virus nomenclature. *WER.* 2013;88 (32):337–48.
28. Organização Mundial da Saúde. Guia sobre regulamentação relativa ao transporte de substâncias infecciosas. Genebra, Suíça; 2017. Disponível em: <http://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2017.8/en/>
29. Benamar T, Tajounte L, Alla A, Khebbba F, Ahmed H, Mulders MN, et al. Real-time PCR for measles virus detection on clinical specimens with negative IgM result in Morocco. *PLoS One.* 2016;11(1):e0147154.
30. Dietz V, Rota J, Izurieta H, Carrasco P, Bellini W. The laboratory confirmation of suspected measles cases in settings of low measles transmission: conclusions from the experience in the Americas. *Bull World Health Organ.* 2004;82(11):852–7.
31. Vicari AS, Dietz V, Bellini WJ, Icenogle J, Castillo-Solorzano C. Interpretation of measles and rubella serology. Em: Andrus JK, de Quadros CA, eds. *Recent advances in immunization.* 2ª ed. Washington, DC: OPAS, 2006: 80–96.
32. Organização Pan-Americana da Saúde. Measles case classification. II. Frequent dilemmas in the field. *EPI Newsl.* 2001;23(6):3–4.
33. Rota JS, Hickman CJ, Sowers SB, Rota PA, Mercader S, Bellini WJ. Two case studies of modified measles in vaccinated physicians exposed to primary measles cases: high risk of infection but low risk of transmission. *J Infect Dis.* 2011;204 Suppl 1.
34. Hickman CJ, Hyde TB, Sowers SB, Mercader S, McGrew M, Williams NJ, et al. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated individuals. *J Infect Dis.* 2011;204 Suppl 1:S549–58.
35. Rosen JB, Rota JS, Hickman CJ, Sowers SB, Mercader S, Rota PA, et al. Outbreak of measles among persons with prior evidence of immunity, New York City, 2011. *Clin Infect Dis.* 2014;58(9):1205–10.
36. Sowers SB, Rota JS, Hickman CJ, Mercader S, Redd S, McNall RJ, et al. High concentrations of measles neutralizing antibodies and high-avidity measles IgG accurately identify measles reinfection cases. *Clin Vaccine Immunology.* 2016;23(8):707–16.
37. Susan J. M. Hahné, Laura M. Nic Lochlainn, Nathalie D. van Burgel, Jeroen Kerkhof, et al. Measles Outbreak Among Previously Immunized Healthcare Workers, the Netherlands, 2014. *J Infect Dis.* 2016 214;(12): 1980– 1986.
38. Centros de Controle e Prevenção de Doenças. Global Measles and Rubella Laboratory Network Support for Elimination Goals, 2010–2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(17):438–42.
39. Featherstone DA, Rota PA, et al. Expansion of the Global Measles and Rubella Laboratory Network 2005–09. *JID* 2011;204 (Supl 1): S491–98.
40. Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Quality assurance/quality control guidance for laboratories performing PCR analyses on environmental samples. Washington: EPA; 2004. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-qaqc-pcr.pdf>.

10. Anexos

Anexo 1.A. Formulário para o envio de amostras do LN ao LRR ou ao LME, para o controle de qualidade dos testes de sarampo

Nome do laboratório nacional:

País:

Data de envio:

Nº	Nº de laboratório	Nome ou iniciais do paciente	Idade a = anos m = meses	Sexo M = masculino F = feminino	Cidade	Data da última vacina contra sarampo-rubéola DD/MM/AA	Data de aparecimento de exantema DD/MM/AA	Data de obtenção das amostras		Resultados de IgM de sarampo				Resultados de IgG de sarampo 1º e 2º soro Resultado (mU/ml)		
								1º soro DD/MM/AA	2º soro DD/MM/AA	1º soro Valor de OD*	1º soro Resultado	2º soro Valor de OD*	2º soro Resultado	1º soro	2º soro	
1	161	[Nome ou iniciais]	5 a	M	San Carlos	15/01/12	15/05/16	18/05/16	14/06/16	0,212	Positivo	0,095	Indeterminada	Indeterminada	Indeterminada	Indeterminada
2	198	[Nome ou iniciais]	14 m	F	San Juan	18/10/16	25/10/16	28/10/16	14/11/16	0,333	Positivo	0,468	Positivo	Positivo	Positivo (22 mU/mL)	Positivo (89 mU/mL)
3																
4																
5																
6																
7																
8																
9																
10																

* OD = densidade ótica

Anexo 1.B. Formulário para o envio de amostras do LN ao LRR ou ao LME, para o controle de qualidade dos testes de rubéola

Nome do laboratório nacional:

País:

Data de envio:

N.	Nº de laboratório	Nome ou iniciais do paciente	Idade a = anos m = meses	Sexo M = masculino F = feminino	Cidade	Data da última vacina contra sarampo-rubéola DD/MM/AA	Data de aparecimento de exantema DD/MM/AA	Data de obtenção das amostras		Resultados de IgM de rubéola				Resultados de IgG de rubéola Resultado (UI/ml)	
								1º soro DD/MM/AA	2º soro DD/MM/AA	1º soro Valor de OD*	1º soro Resultado	2º soro Valor de OD*	2º soro Resultado	1º soro	2º soro
1	161	[Nome ou iniciais]	8 a	M	San Carlos	15/01/12	15/05/16	18/05/16	14/06/16	0,212	Positivo	0,095	Negativo	Indeterminada	Indeterminada
2	198	[Nome ou iniciais]	14 m	F	San Juan	18/10/16	25/10/16	28/10/16	14/11/16	0,333	Positivo	0,468	Positivo	Positivo (22 UI/ml)	Positivo (89 UI/ml)
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															

* OD = densidade ótica

Anexo 2. Formulário para o envio de amostras do LN ao LRR ou ao LME para a confirmação laboratorial de sarampo e rubéola

Nome do laboratório nacional:

País:

Data de envio:

N.	Nº de laboratório	Nome ou iniciais	Idade a = anos m = meses	Sexo: M = masculino F = feminino	Cidade e estado	Data da última vacina contra sarampo-rubéola	Data do aparecimento do exantema MM/DD/AA	Tipo de amostra (soro, urina, swab)	Data de obtenção das amostras			Resultados de IgM 1º soro		Resultados de IgM 2º soro		Resultados para IgG-sarampo		Resultados para IgG-rubéola		Outras análises realizadas no LN e resultados		Testes que precisam ser realizados no LRR ou no LEM	
									1º soro DD/MM/AA	2º soro DD/MM/AA	Urina ou swab DD/MM/AA	Sarampo n (valor OD)	rubéola (valor de OD)	Sarampo n (valor OD)	rubéola (valor de OD)	1º soro (U/ml)	2º soro (U/ml)	Resultado da 1ª amostra (U/ml)	Resultado da 2ª amostra (U/ml)	Avidez para rubéola	RT-qPCR de sarampo		
1	161	(Nome ou iniciais)	8 a	M	San Juan, PR		15/01/12	soro, swab	15/01/12	31/01/12	15/01/12	Positivo (0.566)	Negativo (0.028)	Positivo (20 U/ml)	Positivo (87 U/ml)	Indeterminada	Indeterminada	Indeterminada	Indeterminada	Indeterminada	Indeterminada	PCR para sarampo	
2																							
3																							
4																							
5																							
6																							
7																							
8																							

*OD = densidade óptica

** Se os LNs usarem kits de testes diferentes dos padronizados na RRLSR, incluir o nome do teste e os critérios de interpretação.

Anexo 3. Registro laboratorial dos casos esporádicos de sarampo ou rubéola com um resultado IgM positivo ou indeterminado

Nome do paciente: _____ ID do caso: _____

Idade do paciente: _____ Residência (distrito/cidade): _____

Data de início da febre: _____ Data de aparecimento do exantema: _____

Diagnóstico clínico: Rubéola Sarampo Não especificado Outro _____

Forte suspeita de sarampo ou rubéola: Não Sim

Histórico de vacinação? (SR/dupla viral (sarampo e rubéola) ou SRC/Tríplice viral (sarampo, rubéola e caxumba)

Sim, vacinado (responder todas as perguntas a seguir que sejam aplicáveis) Não vacinado Desconhecido

1 dose Data: _____ Desconhecido

2 doses Data: _____ Desconhecido

Exposição a um caso confirmado ou contato com visitantes internacionais? Não Sim

Histórico de viagens nos 21 dias após o aparecimento do exantema? Não Sim

Data de retorno da viagem: _____

1. RESULTADOS LABORATORIAIS

1.1. Métodos sorológicos

Primeira amostra de soro				
Data de obtenção:				
IgM	Positivo	Negativo	Indeterminado	OD / CO*
Sarampo				
Rubéola				

IgG	Positivo	Negativo	Não realizado	OD / CO*
Sarampo				
Rubéola				

Avidez de IgG	Baixa	Alta	Indeterminada
Sarampo			
Rubéola			

Primeira amostra de soro				
Data de obtenção:				
IgM	Positivo	Negativo	Indeterminado	OD / CO*
Sarampo				
Rubéola				

IgM	Positivo	Negativo	Não realizado	Valor (título de IgG**)
Sarampo				
Rubéola				

Avidez de IgG	Baixa	Alta	Indeterminada
Sarampo			
Rubéola			

* OD = densidade ótica / CO = valor de corte

** Para determinar a soroconversão de IgG, a primeira e a segunda amostras de soro devem ser processadas no mesmo teste.

1.2. Métodos virológicos

Amostra obtida?	Não	Sim	Data de obtenção	Estado da amostra
swab faríngeo				
swab nasal				
swab nasofaríngeo				
Urina				

Isolamento de vírus: Não Sim Resultado obtido: Negativo Positivo

RT-qPCR: Não Sim Resultado obtido: Negativo Positivo

Genótipo: Não Sim Resultado obtido:

2. ANÁLISE DO CASO

Confirmado por laboratório: Não Sim

Descartado em função de:

Testes laboratoriais: Não Sim

Dados clínicos: Não Sim

Dados epidemiológicos: Não Sim

Não foi possível descartar com os testes laboratoriais disponíveis: Não Sim

Se alguma das respostas foi “sim”, forneça informações detalhadas e adicione as observações pertinentes.

Nome e cargo das pessoas que participaram do exame:

Local e data da revisão do caso:

Anexo 4. Influência da prevalência no valor preditivo positivo do teste

Embora os testes de diagnóstico permitam a determinação de anticorpos contra o vírus do sarampo ou rubéola, é importante considerar que os resultados dos testes dependem do cumprimento de todos os critérios de validade estabelecidos pelo fabricante. Além disso, os resultados podem depender da doença em uma determinada população.

Para ilustrar melhor essa situação e seguindo o teorema de Bayes, apresentamos um teste para determinação de anticorpos IgM contra o sarampo com sensibilidade de 97% e especificidade de 99% em uma população de 500 pessoas, em dois cenários epidemiológicos diferentes: em um cenário com uma prevalência de 10% e em outro com uma prevalência de 1%.

O resumo dos resultados obtidos para cada cenário é apresentado no formato de tabela 2x2, como mostrado a seguir.

Resultado do teste	Doentes	Saudáveis	Total
Positivo	a	b	a+b
Negativo	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	N

a = doente com resultado positivo (verdadeiro positivo)

b = saudáveis com resultado positivo (falso positivo)

c = doente com resultado negativo (falso negativo)

d = saudável com resultado negativo (verdadeiro negativo)

N = total da população

a+b = número total de indivíduos com resultado positivo

c+d = número total de indivíduos com resultado negativo

a+c = total de indivíduos doentes

b+d = total de indivíduos saudáveis

$$VPP = a/a+b$$

$$VPN = d/b+d$$

Cenário 1: Prevalência de 10%			
Sensibilidade do teste: 97%			
Especificidade do teste: 99%			
Resultado do teste	Doentes	Saudáveis	Total de testes
Positivo	49	5	53
Negativo	1	445	447
	50	450	500

$$VPP = 49/53 = 0,91$$

$$VPN = 445/447 = 0,99$$

Cenário 2: Prevalência de 1%			
Sensibilidade do teste: 97%			
Especificidade do teste: 99%			
Resultado do teste	Doentes	Saudáveis	Total de testes
Positivo	5	5	10
Negativo	0	490	490
	5	495	500

$$VPP = 5/10 = 0,50$$

$$VPN = 490/490 = 1$$

*Teorema de Bayes: permite calcular o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN) a partir da sensibilidade e especificidade em diferentes prevalências.

Anexo 5. Resumo das situações de casos esporádicos de sarampo ou rubéola em que pode ser necessário realizar testes adicionais

Situação	Situação 1 Sarampo IgM positivo OU Rubéola IgM positivo	Situação 2* Sarampo IgM positivo E Rubéola IgM positivo	Situação 3** Sarampo IgM positivo OU Rubéola IgM positivo	Situação 4 Sarampo IgM negativo OU Rubéola IgM negativo	Situação 5 Sarampo IgM negativo ou indeterminado OU Rubéola IgM negativo ou indeterminado
Forse suspeita de sarampo ou rubéola?	NÃO	NÃO	SIM	SIM	SIM
Histórico de vacinação nas 8 semanas prévias ao aparecimento do exantema?	NÃO	NÃO	SIM	NÃO	Sim (>4 meses)
Exposição a um caso confirmado /contato com visitantes internacionais?	NÃO	NÃO	SIM	SIM	SIM
Histórico de viagens 21 dias antes do aparecimento de exantema?	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	SIM
Testes laboratoriais					
Teste de IgG	Necessário	Necessário	Necessário	Necessário	Necessário
	Se o soro da fase aguda for IgG negativo, deve ser analisada a presença de IgG em uma segunda amostra. Se houver somente uma amostra de soro, é recomendável fazer o teste de avidéz.	Se o soro da fase aguda for IgG negativo, deve-se analisar a presença de IgG na segunda amostra. Se houver somente uma amostra de soro disponível, é recomendável fazer o teste de avidéz.	Se houver somente uma amostra de soro disponível e esta foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema, um resultado: <ul style="list-style-type: none">IgG positivo pode descartar um caso de rubéola aguda. Não se aplica ao caso de sarampo.IgG negativo exige testes virológicos para confirmar o caso.	Se houver somente uma amostra de soro disponível e esta foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema, um resultado: <ul style="list-style-type: none">IgG positivo para rubéola pode descartar o caso se a amostra foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema. Não se aplica ao sarampo.IgG negativo, será necessária uma segunda amostra de soro para análise de IgG.Se uma segunda amostra de soro for obtida 3 dias após o aparecimento do exantema, o caso é confirmado se:<ul style="list-style-type: none">IgM positivoo soro da fase aguda for IgG negativo e o soro da segunda amostra for IgG positivo.	Se houver apenas uma amostra de soro, deve-se analisar IgG contra sarampo ou rubéola; um resultado: <ul style="list-style-type: none">IgG positivo para rubéola: pode descartar esta doença se a amostra foi obtida em até 3 dias a partir do aparecimento do exantema. Não se aplica ao sarampo.IgG negativo, é necessária uma segunda amostra de soro (obtida entre o dia 4 e o dia 30 após o aparecimento do exantema), para detectar IgM contra sarampo ou rubéola.A soroc conversão de IgM ou IgG contra sarampo ou rubéola permite confirmar o caso.

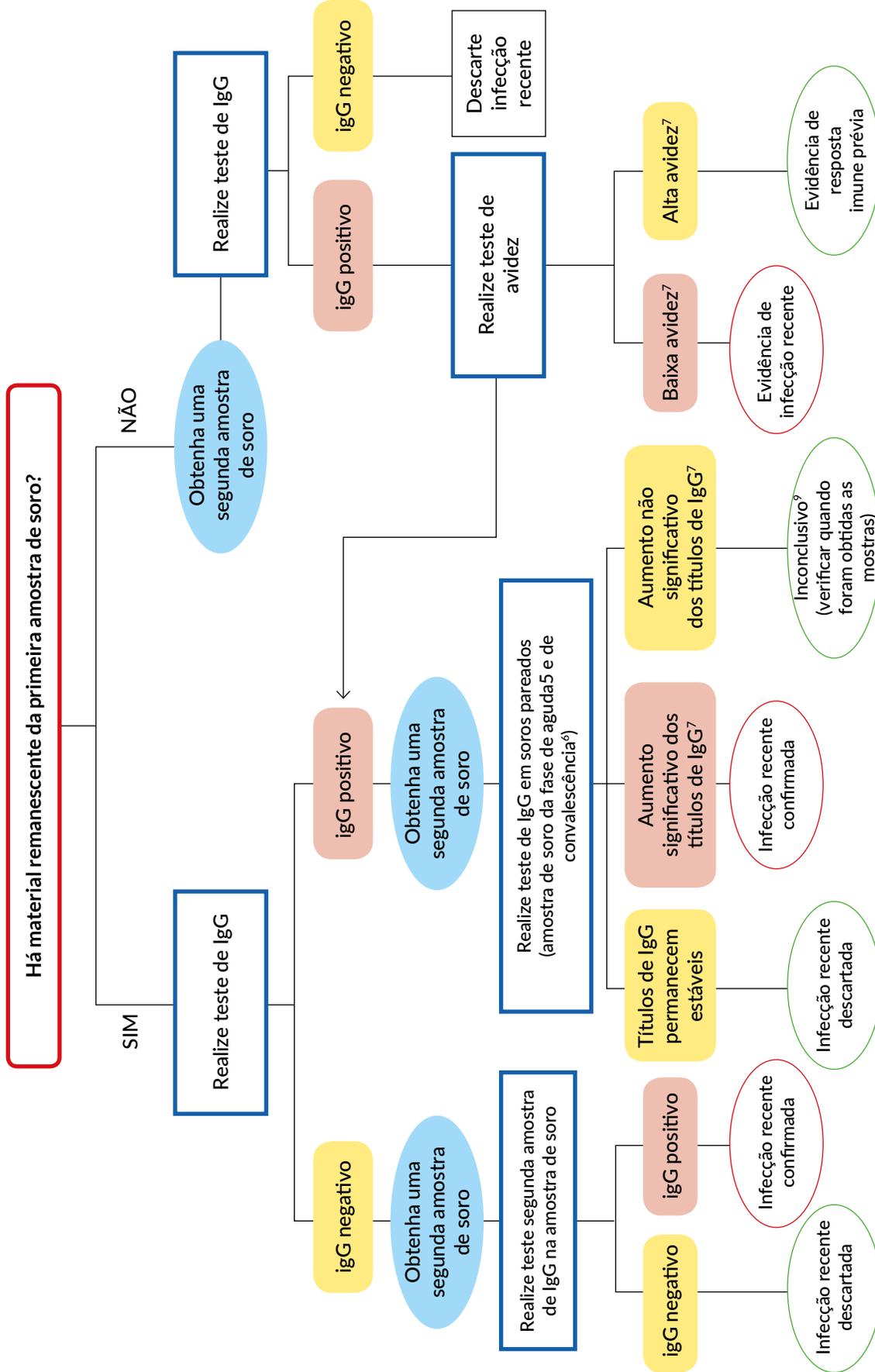
Soroconversão de IgG	Necessário	Necessário	Não necessário	Necessário	Necessário
	A soroconversão de IgG confirmará o caso se a primeira amostra for negativa e a segunda positiva ou se houver um aumento significativo de dois títulos entre os soros pareados.	A soroconversão de IgG confirmará o caso se a primeira amostra for negativa e a segunda positiva ou se houver um aumento significativo de dois títulos entre os soros pareados.	A resposta sorológica não pode ser usada para diferenciar a infecção natural de uma reação à vacina	A soroconversão de IgM ou IgG confirmará o caso se a primeira amostra for negativa e a segunda positiva ou se houver um aumento significativo de dois títulos entre os soros pareados.	A soroconversão de IgM ou IgG confirmará o caso se a primeira amostra for negativa e a segunda positiva ou se houver um aumento significativo de dois títulos entre os soros pareados.
Avidez de IgG	Recomendado Quando há somente uma amostra de soro disponível e é IgG positiva. • A IgG de baixa avidez pode ser usada para confirmar uma infecção recente.	Recomendado Quando há somente uma amostra de soro disponível e é IgG positiva. • A IgG de baixa avidez pode ser usada para confirmar uma infecção recente.	Não necessário A resposta sorológica não pode ser usada para diferenciar a infecção natural de uma reação à vacina	Não necessário	Opcional
Isolamento de vírus ou RT-qPCR	Recomendado • Um resultado positivo confirmará o caso • Um resultado negativo será inconclusivo	Recomendado • Um resultado positivo confirmará o caso • Um resultado negativo será inconclusivo	Necessário • Deve-se tentar isolar o vírus em uma cultura de células (exceto as amostras de fluido oral) • Fazer detecção viral por RT-qPCR • Um resultado positivo requer a identificação do genótipo	Recomendado • Um resultado positivo confirmará o caso • Um resultado negativo será inconclusivo	Necessário Um resultado positivo confirmará o caso, enquanto um resultado negativo será inconclusivo
Análise da sequência	Recomendada	Recomendada	Necessária • A detecção de um vírus do tipo selvagem confirmará o caso • A detecção de uma sequência de uma cepa vacinal descartará o caso.	Recomendada	Recomendada

* Esta situação sugere uma reação inespecífica, ou seja, deve-se considerar a possibilidade de outro agente causador, pois não foram descritas infecções simultâneas por ambos os vírus do tipo selvagem, e infecções sequenciais seriam muito raras em um contexto de eliminação. Em colaboração com o epidemiologista investigador, devem ser descartadas outras causas prováveis, como eritróviro B19, dengue ou outros arbovírus, se possível. Deve-se tentar testes adicionais, tal como descrito antes, para confirmar a infecção por sarampo ou rubéola.

** Esta é uma situação frequente durante os surtos nos quais a vacinação faz parte da estratégia de controle do surto. Nesse caso, a resposta sorológica não pode ser usada para diferenciar a infecção natural de uma reação à vacina, sendo necessária uma caracterização genética do vírus isolado ou um produto de PCR.

NOTA: Deve-se avaliar se é conveniente realizar testes para outros vírus que causam doenças exantemáticas, como dengue e outros arbovírus, eritróviro B19, herpesvírus humano 6 (HHV-6) ou HHV-7 (roséola).

Anexo 7. Algoritmo complementar para análise sorológica de amostras com um resultado inicial IgM positivo ou indeterminado



Obter uma amostra de soro adequada dentro dos 7 dias de la aparición de la erupción.

Anexo 9. Número total de amostras respiratórias e de urina processadas e RT-qPCR positivas de acordo com sua origem e data de obtenção da amostra*

Semana Epi	SE1		SE2		SE3		SE4		SE5		SE6		SE7		SE8		SE9		SE10		SE11		SE12					
	Rec	RT-qPCR+	Rec	IgM+	Proc	RT-qPCR+	Rec	Proc	RT-qPCR+																			
Estado A																												
Município A1																												
Município A2																												
Município A3																												
Município A4																												
Município A5																												
Total Estado A																												
Estado B																												
Município B1																												
Município B2																												
Município B3																												
Município B4																												
Município B5																												
Total Estado B																												
Estado C																												
Município C1																												
Município C2																												
Município C3																												
Município C4																												
Município C5																												
Total Estado C																												
Total A + B + C																												

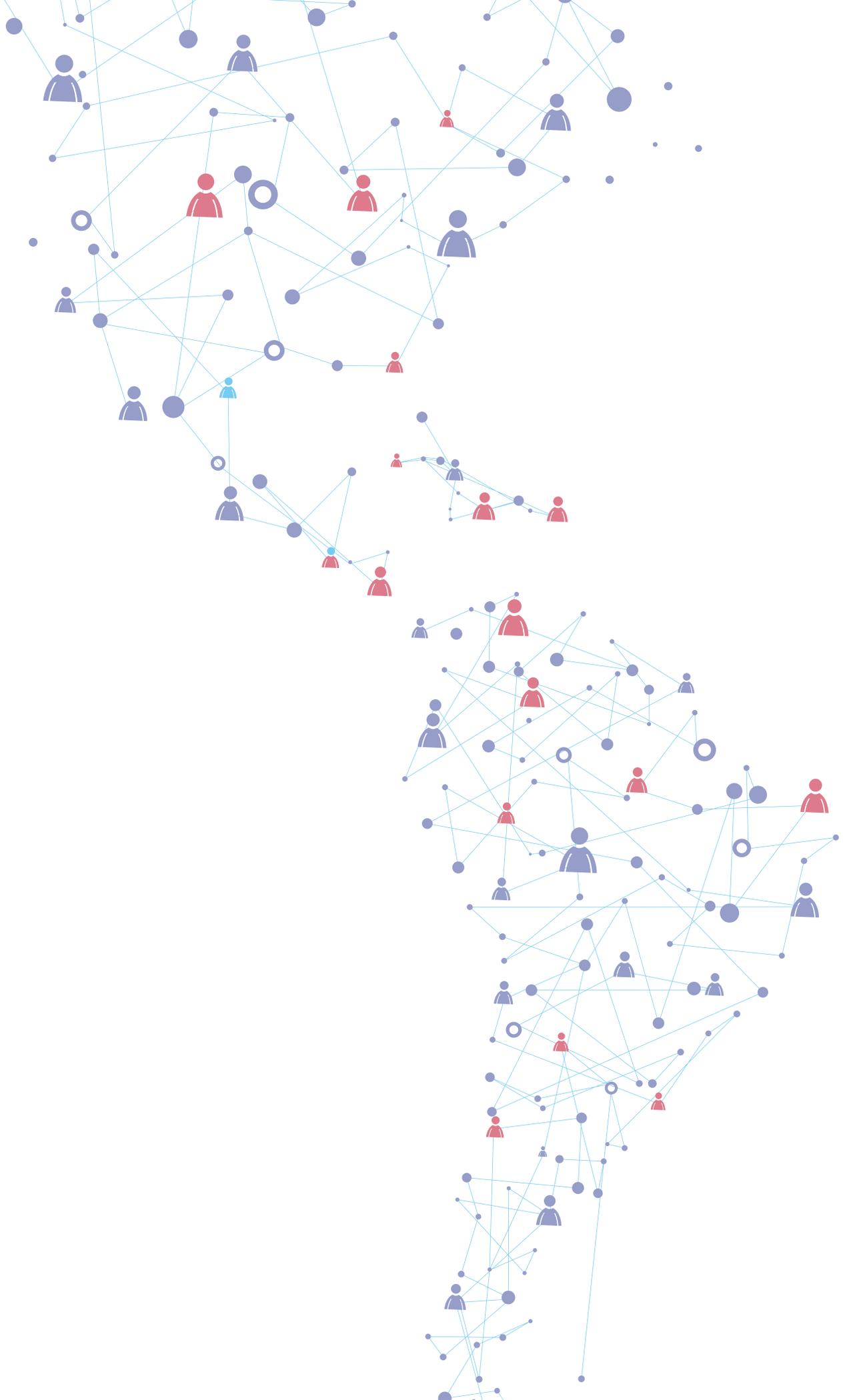
Rec = Recebidas
 Proc = Processadas por RT-qPCR
 RT-qPCR+ = RT-qPCR positivas
 *OBSERVAÇÃO: A semana epidemiológica deverá corresponder à semana em que apareceu o exantema no caso.

Anexo 10. Genótipos identificados e quantidade de sequências detectadas de acordo com a origem e a data de obtenção*

	Mês 1	Mês 2	Mês 3	Mês 4	Mês 5	Mês 6	Mês 7	Mês 8	Mês 9	Mês 10	Mês 11	Mês 12
Estado A												
Município A1	B3 (5)**		B3 (3)		B3 (8)							
Município A2												
Município A3												
Município A4												
Município A5												
Total Estado A	B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)							
Estado B												
Município B1		B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)						
Município B2												
Município B3												
Município B4												
Município B5												
Total Estado B		B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)						
Estado C												
Município C1						B3 (5)		B3 (3)		B3 (8)		
Município C2												
Município C3												
Município C4												
Município C5												
Total Estado C												
Total A + B + C	B3 (5)	B3 (5)	B3 (3)	B3 (3)	B3 (8)	B3 (13)		B3 (3)		B3 (8)		

* = O mês deve corresponder ao mês em que apareceu o exantema.

** B3 (5) = B3 genótipo, (5) cinco sequências detectadas



www.paho.org/inmunizacion

OPAS

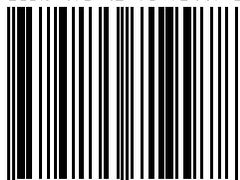


Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS
Américas

ISBN 978-92-75-71997-8



9 789275 719978